



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Facultad de Farmacia y Bioquímica

Escuela Profesional de Toxicología

Relación entre la exposición al arsénico por el agua de consumo y el estrés oxidativo en pobladores del distrito de Molinos-Jauja

TESIS

Para optar el Título Profesional de Toxicólogo

AUTOR

Leslie Marjhorie LÓPEZ PALACIOS

ASESOR

Dra. Yadira FERNÁNDEZ JERÍ

Lima, Perú

2021



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

López L. Relación entre la exposición al arsénico por el agua de consumo y el estrés oxidativo en pobladores del distrito de Molinos-Jauja [Tesis de pregrado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Escuela Profesional de Toxicología; 2021.

Metadatos complementarios

Datos de autor	
Nombres y apellidos	Leslie Marjhorie López Palacios
DNI	47977888
URL de ORCID	No aplica
Datos de asesor	
Nombres y apellidos	Yadira Fernández Jerí
DNI	28307333
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0002-5775-065X
Datos de investigación	
Línea de investigación	B.2.5.2. Cambios metabólicos por factores ambientales y genéticos.
Grupo de investigación	Bioquímica Toxicológica- BIOTOX.
Agencia de financiamiento	Perú. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Vicerrectorado de Investigación y Posgrado.
Ubicación geográfica de la investigación	País: Perú Departamento: Junín Provincia: Jauja Distrito: Molinos Centro poblado: Centro poblado rural Molinos. Latitud: -11.73642 Longitud: -75.44356
Año o rango de años en que se realizó la investigación	2018-2019
URL de disciplinas OCDE	Toxicología https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#3.01.07 Bioquímica, Biología molecular https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#1.06.03



ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Los Miembros del Jurado Examinador y Calificador de la Tesis titulada:

Relación entre la exposición al Arsénico por el agua de consumo y el estrés oxidativo en pobladores del distrito de Molinos-Jauja

Que presenta la Bachiller en Toxicología:

LESLIE MARJHORIE LÓPEZ PALACIOS

Que reunidos en la fecha se llevó a cabo la **SUSTENTACIÓN** de la **TESIS**, y después de las respuestas satisfactorias a las preguntas y objeciones formuladas por el Jurado Evaluador, y practicada la votación han obtenido la siguiente calificación:


Dieciocho (18) SOBRESOLIENTE.

en conformidad con el Art. 34.º del Reglamento para la obtención del Grado Académico de Bachiller en Toxicología y Título Profesional de Toxicólogo (a) de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

JURADO EVALUADOR (R.D. N.º 000474-2020-D-FFB/UNMSM)

- Dr. Mesías Moisés García Ortiz
- Dr. José Alfonso Apesteguía Infantes
- Mg. Elizabeth Liz Chávez Hidalgo
- Mg. Gloria Marina Marín Vallejos

Lima, 22 de marzo de 2021.


Dr. Mesías Moisés García Ortiz
Presidente

INFORMACIÓN GENERAL	
Título del Proyecto	Relación entre la exposición al Arsénico por el agua de consumo y el estrés oxidativo en pobladores del distrito de Molinos, Jauja Perú.
Área de investigación (*)	Bioquímica
Líneas de Investigación (*)	Cambios metabólicos por factores ambientales y genéticos
Ubicación geográfica donde se desarrolla la investigación (incluir localidades y/o coordenadas geográficas)	Jauja se ubica geográficamente en los Andes Centrales, siendo su posición geográfica de 75°30'00 latitud Oeste, 11°46'48 latitud Sur, con una altitud de 3,373 msnm.
Institución que financia si corresponde	VRIP
Año o rango de años que abarcó	2018 – 2019
DATOS DEL TESISISTA	
Apellidos y Nombres	LÓPEZ PALACIOS LESLIE MARJHORIE
Número de matrícula	10040077
Indicar si es egresado o si aún está cursando estudios, de ser así especificar el año de estudios	EGRESADO
Código ORCID (opcional)	
DATOS DEL ASESOR I	
Apellidos y nombres	FERNÁNDEZ JERÍ YADIRA
Código docente: 0A1432 Categoría: Principal Clase: DE	
Máximo grado alcanzado	Doctora en Farmacia y Bioquímica
o ORCID (obligatorio)	0000 - 0002 – 5775 - 065X
Título profesional	Químico Farmacéutica
Departamento Académico al que pertenece	BIOQUÍMICA

Instituto de Investigación al que pertenece	INSTITUTO DE INVESTIGACION DE QUIMICA BIOLOGICA, MICROBIOLOGIA Y BIOTECNOLOGIA "MARCO ANTONIO GARRIDO MALO"
Grupo de investigación al que pertenece indicar si es coordinador, miembro o adherente del grupo de investigación	BIOQUÍMICA TOXICOLÓGICA/ COORDINADORA

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a mis padres Berlinda y Rolando por apoyarme incondicionalmente y creer en mí. A mi mamá Lucycita por todo el apoyo emocional y brindarme fortaleza espiritual. A Sofía y Leandro por ser mis compañeros de aventuras, llantos y risas y ser una de mis motivaciones a querer más.

Al Dr. Valentín, por su guía, cariño y apoyo incondicional a lo largo de todo el proceso de desarrollo de la tesis.

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Yadira Fernández Jerí por la confianza depositada en mi persona aceptando ser mi asesora y compartiendo sus conocimientos para la realización de este trabajo.

Al Dr. Valentín por brindarme sus conocimientos y apoyo.

A los integrantes del Grupo de Investigación BIOTOX por su apoyo en la toma de muestras del presente trabajo.

A los miembros del Jurado Calificador.

A la Facultad de Farmacia y Bioquímica y a la Escuela Profesional de Toxicología.

ÍNDICE

ÍNDICE	i
ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS	iii
ABREVIATURAS	v
RESUMEN	vi
ABSTRAC	vii
1. INTRODUCCIÓN	1
2. OBJETIVOS	3
2.1 Objetivo general	3
2.2 Objetivos específicos	3
3. ANTECEDENTES	4
4. MARCO TEÓRICO	7
4.1 ARSÉNICO Generalidades	7
4.1.1 Propiedades químicas	7
4.1.2 Compuestos arsenicales	7
4.1.3 Distribución y transporte ambiental	7
4.2 USOS	9
4.2.1 Medicina	9
4.2.2 Pigmentos y conservantes	10
4.2.3 Pesticidas	10
4.3 TOXICOCINÉTICA DEL ARSÉNICO	11
4.3.1 Fuentes de exposición humana	11
4.3.2 Absorción	11
4.3.3 Distribución	12
4.3.4 Metabolismo	12
4.3.5 Eliminación	13
4.4 TOXICODINAMIA DEL ARSÉNICO	14
4.5 ESTRÉS OXIDATIVO	15
4.5.1 Oxígeno	15
4.5.2 Radicales libres	16
4.5.3 Sistemas antioxidantes	17
4.5.4 Estrés oxidativo	18
4.6 ARSÉNICO Y PRODUCCIÓN DE ESTRÉS OXIDATIVO	19

4.7	ENFERMEDADES RELACIONADAS AL ARSÉNICO	21
4.7.1	Exposición aguda	21
4.7.2	Exposición crónica	22
4.8	BIOMARCADORES	24
4.8.1	Biomarcadores de exposición al arsénico	24
4.8.2	Biomarcadores de Efecto del arsénico	25
4.8.3	Biomarcadores de Susceptibilidad al arsénico	26
4.8.4	Biomarcadores de estrés oxidativo para el arsénico	27
4.9	REGULACIONES DE EXPOSICIÓN A ARSÉNICO	28
4.10	LÍMITES DE TOLERANCIA BIOLÓGICA	29
5.	METODOLOGÍA	29
5.1	Tipo de investigación	30
5.2	Consideraciones éticas	30
5.3	Área de estudio y población	30
5.4	Muestra y Muestreo	31
5.5	Determinación de Arsénico	34
5.6	Determinación de marcadores de estrés oxidativo	36
5.6.1	Determinación de proteínas de oxidación avanzada (PAOP)	36
5.6.2	Determinación de malondialdehído	39
5.6.3	Determinación de Glutación	39
5.7	Pruebas estadísticas	40
6.	RESULTADOS	42
7.	DISCUSIÓN	62
8.	CONCLUSIONES	70
9.	RECOMENDACIONES	71
10.	REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	72
11.	ANEXOS	89

ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

Tabla 1 Curva de calibración arsénico	35
Tabla 2 Preparación de muestra: Agua y Orina	35
Tabla 3 Preparación de la curva de Calibración de Cloramina T	36
Tabla 4 <i>Tratamiento de muestra y estándares.</i>	37
Tabla 5 Curva Cloramina T	37
Tabla 6 Curva de calibración $\mu\text{moles/L}$ y absorbancias.	37
Tabla 7 Curva de Glutación	39
Tabla 8 Concentración de arsénico en muestras de Agua de consumo en los Centro Poblados de Molinos y Apata (2018)	41
Tabla 9 Características Sociodemográficas del Grupo control y expuesto.	42
Tabla 10 Distribución según ocupación en Grupo control y expuesto.	44
Tabla 11 Prueba de Homogeneidad de varianzas según el Test de Levene.	45
Tabla 12 Concentración de arsénico en orina en Grupo control y expuesto.	46
Tabla 13 Prueba de homogeneidad de varianzas e igualdad de medias de concentración de arsénico entre Grupo control y expuesto.	47
Tabla 14 Concentración de arsénico por género y su división por límite de tolerancia biológica.	49
Tabla 15 Prueba de Levene y T-student en concentración de arsénico por género del Grupo expuesto.	50
Tabla 16 Marcadores de Estrés Oxidativo en Población expuesta y control.	52
Tabla 17 Prueba de T-student, comparación de medias entre Grupo expuesto y control.	54
Tabla 18 Correlación de Pearson entre la exposición al arsénico y los biomarcadores de estrés oxidativo.	56
Figura 1 Biotransformación de arsénico inorgánico	13
Figura 2 Medida de la producción de peróxido de hidrógeno en mitocondria aislada	16
Figura 3 Ubicación geográfica del distrito de Molinos y Apata.	31
Figura 4 <i>Distribución de las poblaciones en estudio por años de residencia.</i>	42
Figura 5 Distribución de las poblaciones según el hábito de fumar.	44
Figura 6 Diagrama de caja para la diferencia de medias entre las concentraciones de arsénico en orina entre el grupo expuesto y control. Fuente: Elaboración propia.	48
Figura 7 Niveles de As en orina expresada en $\mu\text{g/g}$ creatinina en el Grupo expuesto.	49
Figura 8 Niveles de As en orina expresado en $\mu\text{g/L}$ en el Grupo expuesto.	49
Figura 9 Diagrama de cajas para la diferencia de medias del grupo expuesto por género expresada en $\mu\text{g/g}$ creatinina.	51
Figura 10 Diagrama de cajas para la diferencia de medias del grupo expuesto por género expresada en $\mu\text{g/L}$.	52
Figura 11 Diagrama de cajas para la diferencia de medias entre las concentraciones de MDA del Grupo control y expuesto.	54
Figura 12 Diagrama de cajas para la diferencia de medias entre las concentraciones de PAOP en el grupo expuesto y control.	55
Figura 13 Diagrama de cajas para la diferencia de medias entre las concentraciones de glutación en el Grupo control y expuesto.	55

Figura 14 Diagrama de dispersión para la correlación entre la concentración de As en $\mu\text{g/g}$ creatinina, $\mu\text{g/L}$ y MDA.	57
Figura 15 Diagrama de dispersión para la correlación entre la concentración de arsénico en $\mu\text{g/g}$ creatinina, $\mu\text{g/L}$ y PAOP.	58
Figura 16 Diagrama de dispersión para la correlación entre la concentración de arsénico $\mu\text{g/g}$ creatinina, $\mu\text{g/L}$ y Glutación.	59
Figura 17 Foto del Centro campestre Puyhuan. Fuente: Elaboración propia.	91
Figura 18 Foto del Reservorio Punkumachay. Fuente: Elaboración propia.	91
Figura 19 Foto del Reservorio Huanchaspuquio. Fuente: Elaboración propia.	91
Figura 20 Foto de la campaña de salud en el distrito de Molinos. Fuente: Elaboración propia.	92
Figura 21 Foto de la campaña de salud en el distrito de Molinos. Fuente: Elaboración propia.	92
Figura 22 Resultado de agua del Reservorio Punkumachay. Fuente: Elaboración propia.	93
Figura 23 Resultado de agua del Reservorio Punkumachay 2. Fuente: Elaboración propia.	93
Figura 24 Resultado de agua del Reservorio Huanchaspuquio. Fuente: Elaboración propia.	94
Figura 25 Resultado de agua del Centro campestre Puyhuay. Fuente: Elaboración propia.	94
Figura 26 Resultado de agua del Centro campestre Puyhuay. Fuente: Elaboración propia.	95
Figura 27 Curva de Calibración de Cloramina T (PAOP). Fuente: Elaboración propia.	96
Figura 28 Curva de Calibración de Glutación. Fuente: Elaboración propia.	96

ABREVIATURAS

As: Arsénico

AsI: Arsénico inorgánico

AsT: Arsénico Total

MMA: Monometil arsénico

DMA: Dimetil arsénico

GSH: Glutatión

MDA: Malondialdehído

PAOP: Productos avanzados de oxidación de proteínas

TBARS: sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico

EROs: Especies Reactivas de Oxígeno

O₂⁻: Anión superóxido

OH⁻: Anión hidroxilo

H₂O₂: Peróxido de Hidrógeno

SOD: Superóxido dismutasa

CAT: Catalasa

ATP: Adenosin-5-fosfato

OMS: Organización Mundial de la Salud

IARC: Agencia Internacional de Investigación en Cáncer

HACRE: Hidroarsenicismo Crónico Regional Endémico

RESUMEN

El objetivo de la presente investigación fue evaluar la exposición al arsénico inorgánico y su relación con el estrés oxidativo en la población de Molinos, expuesta al consumo de agua contaminada con arsénico. Para ello se recolectaron muestras de agua en diferentes puntos y previo consentimiento informado, se tomaron muestras de la primera orina y sangre de pobladores de 2 distritos de la provincia de Jauja ubicados a 3430 m.s.n.m. Se determinaron las concentraciones de arsénico inorgánico en agua y orina por Espectrofotometría de Absorción Atómica con Generador de Hidruros y se cuantificaron como marcadores de estrés oxidativo al MDA expresado como TBARS, oxidación de proteínas expresadas como PAOP y la cuantificación de Glutación. Participaron 69 pobladores del Centro Poblado de Molinos considerado como grupo expuesto (47 µg/L de As en agua potable) y 35 de Apatá como grupo control (5 µg/L de As en agua potable). Los pobladores de Molinos presentaron niveles de arsénico total en orina que superó al Límite de Tolerancia Biológico para exposición ambiental (20 µg/L y 25 µg/g creatinina) con un promedio del 34,29 µg/L y 34,29 µg/g creatinina, siendo significativamente diferente al grupo control ($p < 0,05$). Los niveles séricos de TBARS (8,87 µmoles/L) y PAOP (101,43 µmol/L) fueron significativamente mayores que el grupo control y los niveles de Glutación (7,27 mmol/L) fueron significativamente menores. Se demostró correlación moderada positiva entre la exposición a arsénico y los marcadores PAOP y MDA y una correlación moderada negativa con el glutación. Por lo que la exposición al arsénico en el agua potable que consumen los pobladores del Centro Poblado de Molinos está generando estrés oxidativo.

Palabras Clave: Exposición al arsénico, MDA, PAOP, glutación, estrés oxidativo.

ABSTRAC

The aim of this research was to demonstrate the relationship between arsenic exposure and oxidative stress in a population exposed to the consumption of inorganic arsenic. For this, water samples were collected at different points and prior informed consent, samples of the first urine and blood were taken from residents of 2 districts of the province of Jauja located at 3430 m.a.s.l. Inorganic Arsenic concentrations in water and urine were determined by Atomic Absorption Spectrophotometry with Hydride Generator and MDA expressed as TBARS, oxidation of proteins expressed as PAOP and glutathione quantification were quantified as markers of oxidative stress. 69 residents of the Centro Poblado de Molinos participated as an exposed group (47 µg / L of As in drinking water) and 35 from Apata as a control group (5 µg / L of As in drinking water). The inhabitants of Molinos presented total arsenic levels in urine that exceeded the Biological Tolerance Limit for environmental exposure (20 µg/L and 25 µg/g creatinine) with an average of 34,29 µg/L and 34,29 µg/g creatinine, being significantly different from the control group ($p < 0,05$). Serum levels of TBARS (8,87µmol / L) and AOPP (101,43µmol / L) were significantly higher than the control group and Glutathione levels (7,27mmol / L) were significantly lower. A moderate positive correlation was shown between arsenic exposure and the PAOP and MDA markers, and a moderate negative correlation between arsenic exposure and glutathione. Therefore, the exposure to arsenic in the drinking water consumed by the residents of the Centro Poblado de Molinos is generating oxidative stress.

Key Words: Arsenic Exposure, MDA, AOPP, Glutathione, Oxidative Stress

1. INTRODUCCIÓN

El arsénico inorgánico (AsI) es considerado un carcinógeno para lo humanos y es el contaminante químico de mayor relevancia en el agua potable a nivel mundial, por este motivo es considerado por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como un grave problema, con urgencia de solución, para la salud pública. A nivel mundial son 200 millones de personas en más de 50 países expuestos a concentraciones de arsénico (As) en agua potable que exceden al valor de referencia provisional de la OMS de 10 µg/L ^{1,2}.

En el Perú existe el problema de contaminación de agua potable con As, hallazgos presentados por George *et al.*² En el año 2014, reportaron contaminación generalizada por As en el agua subterránea y superficial utilizadas en 12 distritos del Perú, cuyos niveles superan el límite establecido por la OMS además los autores hacen una llamada de atención a la responsabilidad del Ministerio de Salud sobre la calidad nacional del agua al no existir una vigilancia o mitigación del As en todo el Perú.

La exposición crónica al As por la ingestión de agua puede causar efectos adversos a la salud humana como son: enfermedades cardiovasculares, cutáneas, neurológicas, hepáticas, renales, metabólicas y respiratorias y cáncer de piel, pulmón, hígado y riñón ¹.

Entre los mecanismos de toxicidad del As se han descrito el estrés oxidativo y la metilación del arsénico. El As se comporta como un pro oxidante, puede causar peroxidación lipídica, oxidación de proteínas y enzimas, depleción de glutatión (GSH) y oxidación de ADN. Los niveles de GSH se ven alterados ya que este se usa como un donador de electrones que interviene en la conversión del arsénico pentavalente a trivalente o al unirse con el arsénico, provocando la oxidación de GSH mediante la generación de radicales libres provocados por el As ^{3,4}.

Investigaciones epidemiológicas realizadas en diferentes partes del mundo revelan que los efectos causados por el consumo crónico de As en aguas bebibles no son los mismos, en las diferentes poblaciones se postula que el desencadenamiento de los efectos está supeditado a la nutrición y a la genética de las poblaciones. Por lo

que es necesario conocer las características de la exposición y el impacto para la salud en la población peruana. En la presente investigación se determinó la exposición al As mediante la cuantificación del metaloide en orina y se relacionó con marcadores de estrés oxidativo en pobladores voluntarios del Centro poblado de Molinos quienes se encuentran expuestos a concentraciones por encima de la norma establecida.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo general

- Evaluar la exposición al arsénico y el estrés oxidativo en pobladores del distrito de Molinos Jauja.

2.2 Objetivos específicos

- Demostrar la exposición al arsénico en los pobladores del Centro poblado de Molinos, Jauja-Perú.
- Comparar marcadores de estrés oxidativo entre pobladores expuestos al arsénico y grupo control.
- Relacionar los niveles de arsénico en orina con los marcadores de estrés oxidativo.

3. ANTECEDENTES

El As se distribuye ampliamente en fuentes naturales como aire, tierra y agua, su presencia en estas fuentes se encuentra asociada a procesos geológicos y actividades humanas como la minería, fundición de metales, o su uso en fórmulas de pesticidas y conservantes de madera. Según la OMS ¹, el AsI es el contaminante químico más importante en el agua potable a nivel mundial, por lo que la exposición a este metaloide y su presencia en el agua de consumo es un problema de salud pública ya que son numerosas las poblaciones afectadas en todo el mundo ^{1,5}.

A nivel mundial son 200 millones de personas en más de 50 países expuestos a concentraciones de As en agua potable que exceden al valor de referencia provisional de la OMS ($10 \mu\text{g} / \text{L}$) ¹. Los países asiáticos como Bangladesh, India, China, Nepal y Vietnam han sido los países con mayor impacto, por la mayor cantidad de población expuesta se concentran en estos países. En la India existen alrededor de 6 millones de personas expuestas, de las cuales más de 2 millones son niños. En Estados Unidos más de 350 mil personas beben agua cuyo contenido es mayor a $50 \mu\text{g}/\text{L}$, y más de 2,5 millones de personas están siendo abastecidas con agua con concentraciones de As mayores a $25 \mu\text{g} / \text{L}$ ^{5,6,7} y en países de América Latina como Argentina, Bolivia, Chile, Perú, Uruguay se estima que al menos 4,5 millones de personas beben en forma permanente agua con niveles de As superiores a $50 \mu\text{g}/\text{L}$ cuya fuente de origen es principalmente geogénico ^{2,5,8}.

Existe investigación acerca de la contaminación de aguas por As en Perú, Bundschuh *et al.* ⁹ describen ampliamente este problema, asociando la presencia de As en aguas superficiales y subterráneas de origen natural al volcanismo terciario y cuaternario desarrollado en la Cordillera de los Andes. Los autores reportan que en el año 2009, por lo menos unas 300 mil personas bebían agua con niveles de As por encima del valor de la norma nacional vigente a esa fecha ($50 \mu\text{g} / \text{L}$).

Uno de los estudios más recientes fue efectuado en el 2013 por George *et al.* ², en 12 distritos del Perú que se encuentran en regiones con minería histórica o actual, las muestras de agua recolectadas fueron 151, procedentes de aguas superficiales, de ríos, manantiales y tuberías municipales, mientras que todas las muestras de

agua subterránea provenían de fuentes de agua potable doméstica. Se utilizaron dos métodos de análisis; uno fue el espectrómetro de masas de plasma acoplado inductivamente (ICP-MS) y para la cuantificación en el mismo lugar del muestreo, el kit EQ. Los resultados reportaron contaminación endémica de las aguas subterráneas utilizadas para beber en todos los distritos estudiados, siendo una alarmante amenaza para la salud pública.

Se encuentra reportado por la OMS que la exposición crónica al As puede ocasionar: enfermedades cardiovasculares, cutáneas, neurológicas, hepáticas, renales, metabólicas y respiratorias, además la Agencia Internacional de investigación en Cáncer (IARC) en el 2002, clasificó al As como un agente carcinogénico para humanos ⁵. Las primeras evidencias que fueron reportadas por exposición al As en el agua son lesiones en la piel como hiperpigmentación, hiperqueratosis y cáncer cutáneo ⁵.

Posteriormente estudios epidemiológicos reportaron desórdenes del sistema nervioso, diabetes mellitus, anemia, alteraciones del hígado, enfermedades cardiovasculares, cáncer de piel, pulmón y vejiga ^{6,7}, además de las implicaciones señaladas se han reportado un incremento de abortos espontáneos y de recién nacidos muertos ⁸.

En América Latina, Bundschuh *et al.* ⁹, Carabantes A ⁵, Castro de Esparza Mb ⁷ tomaron especial interés en el estudio de la exposición crónica al As a través del agua de consumo humano. Hace 60 años en Argentina, se dieron a conocer las primeras manifestaciones de una enfermedad llamada Bell Ville, que posteriormente se le conoció como Hidroarsenicismo crónico regional endémico (HACRE) ^{5,7}. Casos de HACRE también se encontraron en Chile, México, Bolivia y Nicaragua. En Chile 1970, las tasas de incidencia anual de la dermatosis arsenical crónica fueron de 20 por 100 mil ⁷.

Son pocas las investigaciones de monitoreo realizadas en Perú que relacionan el consumo de agua y niveles de As en la población, sin embargo en el año 2016 en Tacna, Candarave, se realizó un estudio en el que se analizó los niveles de excreción de As en la población expuesta a niveles de As en agua de hasta 1,1 mg/L, encontrándose una media de 0,087 mg/g creatinina, con un máximo de 0,117 mg/g creatinina superando los niveles de As estipulados para personas expuestas

no ocupacionalmente ¹⁰. El As total (AsT) urinario se usa ampliamente como un biomarcador de exposición en humanos y sus concentraciones totales se correlacionan con aumentos en la exposición al As ¹¹. En general, el ser humano puede metabolizar el AsI sea en forma de arseniato (As V) o arsenito (As III), a monometil arsénico (MMA) y dimetil arsénico (DMA) gracias a la enzima arsénico (III), metil transferasa (AS3MT) mediante reacciones de reducción y metilación. Recientemente se conoce que más bien este es un proceso de bioactivación porque las especies metiladas del As son más tóxicas ^{11,12}. Estos metabolitos son excretados junto al AsI en la orina, y su cuantificación son indicadores de la capacidad de metabolización del As en el organismo ^{12,13}.

Diferentes investigaciones relacionan a la metilación del As y el estrés oxidativo como mecanismos implicados en la toxicidad del As ^{3, 4,14}. El As ha sido descrito como un pro oxidante, puede causar peroxidación lipídica, oxidación de proteínas y enzimas antioxidantes, depleción de GSH y oxidación de ADN. Altera los niveles de GSH celular utilizándolo como donador de electrones para la conversión de arsenicales pentavalentes a trivalentes o uniéndose directamente a él oxidando GSH a través de la generación de radicales libres inducida por As. El As forma especies reactivas de oxígeno (EROs), que se conoce inducen la poli ADP-ribosilación que está implicada en mecanismos de reparación de ADN, apoptosis y transducción de señales.

Se ha demostrado la inducción de estrés oxidativo por exposición a As en modelos animales, en los cuales se han reportado niveles alterados de enzimas antioxidantes, depleción de GSH y niveles elevados de malondialdehído (MDA) demostrando peroxidación lipídica ^{3,4}.

Estudios epidemiológicos en China ¹⁴ y Taiwán ¹⁵, han reportado incremento de los niveles de EROs y disminución de la capacidad antioxidante en individuos expuestos a agua contaminada con As.

4. MARCO TEÓRICO

4.1 ARSÉNICO Generalidades

4.1.1 Propiedades químicas

El vigésimo lugar en abundancia sobre la corteza terrestre lo ocupa el As. Químicamente es considerado un metaloide y es gracias a su baja conductividad que se le atribuye esta característica. Se ubica en el grupo VA de la tabla periódica y posee 4 estados de oxidación: As elemental o metaloide (0), trivalente (+3,-3) y el pentavalente (+5), de estos estados de oxidación el trivalente y pentavalente corresponden a los compuestos de mayor importancia biológica. Por lo general el As elemental y sus compuestos se ven en la naturaleza como polvos blanquecinos y en algunos casos incoloros, tampoco tienen olor, ni sabor ¹⁶.

El As es más común encontrarlo formando compuestos con otros elementos, como son el oxígeno, sulfuros y cloruros, a la unión con estos elementos se le da el nombre de AsI y representa la mayor parte de As ambiental, también existen en su forma orgánica y volátil ^{16, 17}.

4.1.2 Compuestos arsenicales

Los compuestos inorgánicos de As son los que predominan bajo condiciones de reducción y oxidación, siendo llamados como arsenito a los compuestos trivalentes (As III) y arseniato a los compuestos pentavalentes (As V). El trióxido de arsénico es el compuesto trivalente inorgánico más relevante, mientras que el pentóxido de arsénico es uno de los más relevantes para compuestos pentavalentes inorgánicos.

Los compuestos arsenicales orgánicos se forman gracias a la unión del As con moléculas de carbono e hidrógeno, dentro de los compuestos arsenicales orgánicos se puede encontrar a la arsenobetaina, compuesto encontrado comúnmente en los alimentos y el ácido dimetilarsínico (ácido cacodílico) utilizado como pesticida para el algodón ^{16,17}.

4.1.3 Distribución y transporte ambiental

La amplia distribución del As en medios naturales se debe principalmente al vulcanismo desarrollado en ciertas regiones del mundo y a la actividad antropogénica.

El suelo es el principal medio concentrador de As, debido a que está compuesto por rocas derivadas de la actividad volcánica por lo que se ha evidenciado un rango de concentración de 1,7 a 400 mg/Kg As en estas rocas ¹⁸. Sin embargo es la actividad antropogénica la que genera mayor preocupación debido a que esta contaminación de suelos se da cerca a zonas urbanizadas. Las actividades que más contaminación por As han provocado son: la minería, la combustión, la preservación de madera y su uso como pesticidas; en suelos con este tipo de contaminación se ha evidenciado valores de hasta 8000 mg/kg As ¹⁹.

Si bien el As se concentra en el suelo, este es transportado por el aire, como trióxido de As, en forma de partículas y dependiendo del tamaño de estas es que se desplaza a través de diversos cuerpos receptores ya sea por la precipitación o depositándose por su elevado peso molecular, volviendo de esta forma a la tierra ¹⁸.

La liberación de trióxido de arsénico al medio ambiente es debido al vulcanismo, quema de vegetación, procesos industriales y se ha descrito también mediante el metabolismo de ciertos microorganismos que liberan As en forma de gas ^{18,19}.

La forma en la que el As naturalmente está presente en cuerpos de agua tanto superficiales como subterráneas está muy relacionado a la concentración de este metaloide en el suelo acuoso, en el sedimento o debido a escurrimientos provocados por las precipitaciones de suelos contaminados con As. La arsenopirita representa la mayor fuente de As en medio acuoso; se encuentra principalmente en las reservas de sulfuro ¹⁹.

La movilidad del As y su disponibilidad en los cuerpos acuosos depende directamente de la disponibilidad del metaloide en el suelo, las condiciones redox, pH, salinidad y la presencia de metales como Hierro (Fe), Magnesio (Mg) y Fósforo (P) ²⁰.

Las formas arsenicales predominantes en medios acuosos son los inorgánicos, siendo el arseniato preferentemente absorbido en forma de óxidos hidratados a valores de pH que oscilan entre 4 y 7, mientras que el arsenito preferentemente a valores de pH que oscilan entre 7 y 10¹⁸. Uno de los ejemplos de acumulación histórica de As es el del Delta de Bengal; en el cual la acumulación de As en el suelo se dio durante miles de años y fue debido a cambios biogeológicos del ambiente, cambios del pH y salinidad del agua, que se generó la liberación del As en las aguas del subsuelo²².

Según estudios realizados por la OMS; en el aire, se encuentra que la media de As para zonas rurales es de 0,02 a 4 ng/m³, la concentración media en el agua de mar es no mayor a 0,002 mg/L, de la misma forma la concentración en aguas superficiales y subterráneas generalmente está por debajo de 10 µg/L¹⁸, exceptuando los lugares en los que se observa la presencia de actividad volcánica, la presencia de rocas con alto contenido de As, depósitos de minerales de sulfuro o actividad antropogénica cuyas concentraciones de As supera con creces los lineamiento establecidos por la OMS²⁻⁸.

Los cuerpos acuosos, tanto superficial y subterráneos, en Perú se encuentran afectados naturalmente por la actividad minera y la refinera de metales, llegando a concentraciones por encima de 1000 µg/L^{23,10}.

4.2 USOS

El As y sus compuestos han sido utilizados desde tiempos antiguos, teniendo información de su uso desde la edad media como veneno, también llamado como el Veneno de los Reyes¹⁰.

4.2.1 Medicina

Su uso en medicina ha sido ampliamente estudiado, dependiendo de la dosis, se evidenció su efectividad para el tratamiento de úlceras, abscesos, sífilis, asma, eczema, psoriasis e incluso algunas neoplasias como la leucemia, sin embargo, la formulación requería grandes dosis para ser efectivo por lo que se dejaron de usar por la toxicidad asociada que provocaba²⁴.

En la actualidad, el uso de trióxido de As en el tratamiento de la leucemia promielocítica aguda se ha aceptado, siendo en China reportados los primeros casos exitosos de este tratamiento ^{25,26}. Debido a la acumulación de más estudios ^{27,28} realizados con respecto al trióxido de As este fue aceptado por la FDA como tratamiento para Leucemia Promielocítica Aguda ²⁵.

4.2.2 Pigmentos y conservantes

Durante el siglo 19 y principios del siglo 20, los pigmentos a base de sulfuro de As fueron muy utilizados en el ámbito artístico ²⁹, sin embargo, su uso llevó a reportes de toxicidad, lo que promovió el estudio de la biotransformación del As a su forma volátil mediado por ciertos microorganismos ³⁰.

En la actualidad el uso de pigmentos a base de As ha disminuido, según la ATSDR el 90% del As era usado como preservante de madera; siendo el principal el arsenato cromado de cobre (CCA), sin embargo, en el 2003 en Estados Unidos se inició la transición hacia el uso de conservantes menos tóxicos ¹⁷. Sin embargo, se sigue usando en la industria como en las aleaciones para baterías de plomo, semiconductores y diodos.

4.2.3 Pesticidas

Las sales arsenicales formadas a partir de los óxidos, principalmente de los arsenitos fueron los escogidos para su uso como pesticidas debido a su alta solubilidad en el agua, consiguiendo de esta manera su elevada toxicidad ³¹. En Estados Unidos, se utilizó el Verde de París (Acetoarsenito de Cobre) para el control de plagas de escarabajos en Colorado ³², de la misma forma durante la guerra de Vietnam se utilizó el Agente Azul (ácido cacodílico) para desabastecer a los vietnamitas de alimentos ya que este agente provoca la defoliación y secado de las plantas.

En el año 2009 se canceló el uso de insecticidas a base de As tanto inorgánicos como orgánicos, haciéndose efectiva en su totalidad para diciembre del 2013;

exceptuando de esta prohibición al Monosodio metanoarsonato (MSMA) usado hasta la actualidad como herbicida para el algodón³³.

4.3 TOXICOCINÉTICA DEL ARSÉNICO

4.3.1 Fuentes de exposición humana

Las principales vías de exposición al As a la población humana son la ingesta, inhalación y absorción por vía dérmica; para la población expuesta no ocupacionalmente la principal vía de exposición es la ingesta, ya sea mediante el agua de consumo o por la ingesta de alimentos, siendo la primera de estas la más importante y de mayor preocupación a nivel mundial; mientras que en la población expuesta ocupacionalmente es mediante la inhalación y por la vía dermal^{16,17}.

4.3.2 Absorción

El As elemental es pobremente absorbido por cualquiera de estas vías, por lo general no representa un grave problema. La absorción dérmica del As elemental se considera prácticamente nula, sin embargo, se han reportado algunos casos aislados que han provocado efectos en la salud debido a esta exposición. Teniendo en cuenta que la absorción de los compuestos arsenicales secos por vía dérmica sólo alcanza un 2%^{34,35}.

En el ambiente ocupacional las formas inorgánicas y gaseosas de arsénico son las que predominan, siendo el gas arsina el de mayor importancia. En el ambiente metalúrgico se encuentran en mayor proporción la forma de AsI, As⁺³, y la absorción de estas partículas depende de su tamaño y su solubilidad; teniendo en cuenta esta premisa, los compuestos orgánicos arsenicales son bien absorbidos por inhalación debido a su liposolubilidad lo que le permite su llegada hasta los alvéolos. En el tracto respiratorio superior se quedan atrapadas las partículas de mayor tamaño, se depuran posteriormente por los vellos nasales y siendo eliminadas por la

mucosidad nasal; ingresando hasta el pulmón las partículas de tamaños de 7µm, absorbiéndose entre el 75 al 85% ³⁴.

La absorción por vía oral corresponde a la vía de mayor incidencia, aportando gran cantidad de AsI a la dieta. De los compuestos arsenicales inorgánicos, el arsenito es más liposoluble que el arseniato por lo que tiene mayor absorción en el intestino. Disueltos en el agua los compuestos alcanzan una absorción del 95%. En el caso del aporte del arsénico orgánico encontrado en los alimentos, estos se absorben entre un 75-85% ³⁵.

4.3.3 Distribución

El As una vez en el cuerpo se une rápidamente a las globinas y hemoglobinas permaneciendo en el torrente sanguíneo alrededor de 1 hora, luego de esto el As unido al GSH o cisteína empieza su distribución a los demás órganos, llegando a los órganos diana del cuerpo dentro de las 24 horas; gracias a su afinidad a los grupos sulfhidrilos ³⁵. Estudios realizados en ratas, expuestas a 10 y 100 µmol/Kg arseniato de sodio, evidenció la presencia de AsI y sus metabolitos, MMA y DMA en riñón, pulmón e hígado ³⁶. La retención de los derivados metilados del As es menor en tejidos que el AsI ³⁷.

Después de 4 semanas de exposición, el As que ha quedado en el cuerpo se almacena en tejidos ricos en queratina, teniendo como ejemplo el cabellos, uñas y piel, sin embargo en se ha observado que en menor proporción en los huesos y dientes ¹⁷. Según datos recolectados por el ATSDR, se ha demostrado que el As puede cruzar la barrera hematoencefálica ^{17, 35, 37}.

4.3.4 Metabolismo

Las rutas metabólicas del As aún no han sido del todo dilucidadas, sin embargo, uno de los mecanismos metabólicos más aceptados es el de metilaciones sucesivas como forma de detoxificación ³⁷. En estudios se han determinado que las especies metiladas son incluso más tóxicas para el organismo ³⁵.

El tracto gastrointestinal se considera el órgano en donde se absorbe el AsI en ambos estados de oxidación y es en el hígado donde se desarrolla la mayor parte de su metilación mediada por la enzima metil transferasa. Los compuestos arsenicales orgánicos, presentes en alimentos, principalmente en peces y mariscos, se les consideran poco tóxicos y son eliminados inalterados ³⁵.

El arsenito y el arseniato ingresan al cuerpo, generando reacciones redox, principalmente la reducción de arseniato a arsenito, esta reducción está mediada por la enzima Arsénico Metil transferasa (AS3MT) en presencia de un donador de electrones S-Adenosilmetionina y el cofactor Glutación, obteniendo como resultado la formación de As en sus formas monometiladas; (MMA^{III} y MMA^{V}) y dimetiladas (DMA^{III} y DMA^{V}) ³⁷, como se puede observar en la figura 1.

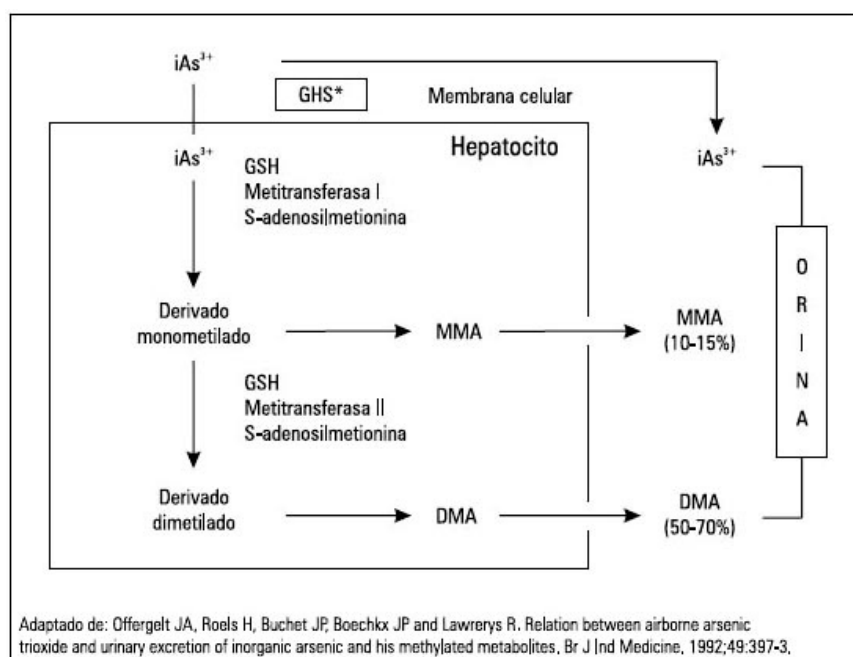


Figura 1 Biotransformación de arsénico inorgánico

Fuente: Ramírez A. Exposición ocupacional y ambiental al arsénico. Actualización bibliográfica para investigación científica. Anales de la Facultad de Medicina. 2013; 74(3):237.

4.3.5 Eliminación

La principal ruta de eliminación de As en el cuerpo es la orina, siendo su tiempo de vida media de 4 días seguidos a la exposición ³⁷. En estudios realizados en trabajadores expuestos a isótopos de ⁷⁴As en el que se le midió el tiempo vida media y eliminación en orina y heces, encontrándose que luego del séptimo día de la exposición en orina se recuperó el 62% del As absorbido, y 6% en heces, sin embargo, en las heces no se pudo determinar exactamente ya que el As pudo ser absorbido vía biliar ³⁸.

Se ha evidenciado que los metabolitos metilados son excretados más rápido que los inorgánicos por la orina, pudiendo ser diferenciados por su velocidad de eliminación. En el estudio realizado por Buchet *et al.*⁸, se les administró una dosis oral única de 500 microgramos de As a tres personas, encontrándose que alrededor del 50% de As excretado se hallaba en un tiempo de 4 días. En el caso de los compuestos metilados se encontró una excreción de 78% de MMA y 75% de DMA. En ratas se ha encontrado la excreción inmediata de DMA^V inalterada en orina ^{37,38}.

4.4 TOXICODINAMIA DEL ARSÉNICO

Los efectos tóxicos generados por el AsI constan de varias vías; su interacción con las funciones enzimáticas se puede dar a través de la unión del grupo sulfhidrilo del As trivalente o por sustitución del fosfato. Al tener en cuenta que los compuestos con mayor toxicidad son los trivalentes, se podría considerar que los compuestos pentavalentes tienen mucho menor efecto en la actividad enzimática ^{35,39}.

En el caso del arseniato se encontró que tanto en *E. coli* como en *Saccharomyces cerevisiae* varios transportadores de fosfato eran los responsables del ingreso del arsénico pentavalente, por lo que en mamíferos se considera también su mecanismo de transporte ³⁹.

La mayoría de las reacciones metabólicas se da mediada por el arsenito, sin embargo el arseniato puede reemplazar al fosfato en las reacciones de fosforilación para generar energía, provocando la disminución en la producción de Adenosin Trifosfato (ATP), en su lugar generando el Adenosin Difosfato arseniato (ADP), este inestable intermediario en medio acuoso sirve de sustrato para la hexoquinasa

resultando en Glucosa-6-arseniato en lugar de glucosa-6 fosfato, inhibiendo la función de las enzimas mencionadas ⁴⁰.

En el caso del arsenito este ingresa a los organismos mediante transportadores pertenecientes a la familia de la acuaglicerosporinas, estos estudios se realizaron tanto en bacterias como en levaduras. En mamíferos se encontró que estos transportadores catalizan el ingreso de metaloides trivalentes a un pH neutro ³⁹.

Una vez que el arseniato ingresa al organismo este se une a los residuos de cisteínas de diferentes tipos de enzimas, compitiendo por el sitio de acción con los fosfatos y sulfatos, una vez unida esta forma un complejo cisteína-azufre-arsenito, siendo esto posteriormente reducido en dos pasos por la glutaredoxina y GSH. Entre las enzimas que interaccionan con el arsenito se encuentran las reductasas, protein fosfatasas (Protein Tirosin Fosfato Fosfatasas), ATP-asas (ATP-asa translocador de arsenito), las cuales participan en el transporte hacia el citosol del arsenito. Por lo tanto, su reacción con estas enzimas genera una inhibición de las mismas. Se ha evidenciado que la reducción o incremento del GSH depende del tiempo de exposición que se tenga al As ⁴, inhibición de ácido delta aminolevulínico deshidratasa (ALAD) y de las ATPasas provoca la reducción de la producción de ATP ^{39,40}.

La reducción de energía por la disminución de la producción de ATP de la célula puede desencadenar el aumento de concentración de peróxido de hidrógeno (H₂O₂), de la misma forma, al GSH ser parte del mecanismo de desactivación del As presentará una disminución de su actividad generando un incremento de las EROs, posteriormente provocando estrés oxidativo que es la principal vía a la cual se le atribuye la toxicidad del As ⁴⁰.

4.5 ESTRÉS OXIDATIVO

4.5.1 Oxígeno

Para el adecuado funcionamiento de organismos aeróbicos, el oxígeno es indispensable al ser utilizado para la producción de ATP mediante la fosforilación

Bajo condiciones normales sólo el 2% de oxígeno se convierte en O_2^- , este anión es posteriormente convertido a H_2O_2 por medio de la enzima superóxido dismutasa (SOD). La posterior hidrólisis del H_2O_2 en la mitocondria está mediada por el GSH peroxidasa y peroxirredoxinas, ambas enzimas dependen del GSH y la tioredoxina para su reducción respectiva. Si bien, el H_2O_2 no es considerado un radical libre en sí, porque es menos reactivo, su hidrólisis deficiente puede conllevar a la formación de otro ERO altamente reactivo como es el ion hidroxilo ($OH\cdot$), siendo vida media de este ion de 10^{-9} segundos.

La generación de peroxinitrito ($ONOO^-$), conocido pro oxidante, se origina principalmente por la interacción del O_2^- con el óxido nítrico ($NO\cdot$) ⁴¹⁻⁴⁴.

Otras fuentes de producción EROs son la enzima nicotinamida adenin dinucleótido fosfato oxidasa (NADPH), citocromo P450 y otras enzimas óxido-reductasas ⁴³.

Los EROs y ERNs son generados por factores tanto endógenos, como en la respuesta inflamatoria, activación de la respuesta inmune, estrés mental, isquemia, hipoxia o hiperoxia, envejecimiento, entre otros; y factores exógenos como contaminantes ambientales, drogas, alcohol, cigarrillo y por metales pesados como el As ^{12, 13,40-42}.

La presencia de los EROs juega un doble papel, ya que pueden ser beneficiosas; se ha evidenciado que en cantidades controladas pueden participar en la respuesta celular y en la respuesta inmune de los organismos, sin embargo, en su producción descontrolada, estos pueden generar estrés oxidativo, conllevando al daño de muchas estructuras celulares.

4.5.3 Sistemas antioxidantes

Entre los sistemas de defensa celulares se encuentran los enzimáticos y no enzimáticos. Las enzimas encargadas de la desactivación de los radicales libres generalmente tienen metales de transición en su centro de acción como el manganeso, cobre, zinc y selenio para la transferencia de electrones. La enzima SOD es la encargada de metabolizar y desactivar al O_2^- . El H_2O_2 es hidrolizado

gracias a la acción de la catalasa (CAT) y la glutatión peroxidasa; este último es dependiente de la presencia de GSH, el principal tampón redox de tiol celular.

Los sistemas no enzimáticos de defensa comprenden: La vitamina C, vitamina E, tiorredoxina, ceruloplasmina y transferrina, entre los más importantes ^{41,42}.

4.5.4 Estrés oxidativo

El estrés oxidativo es la pérdida del balance entre los sistemas de defensa del organismo y la producción de radicales libres, pudiendo ser generado por una disminución en la actividad del sistema antioxidante o por la sobreproducción de radicales libres en el organismo. Los motivos de este desbalance pueden ser propios del desgaste del organismo o generado por agentes externos. Los lípidos, proteínas y el ADN son los principales puntos de ataque de los radicales libres, por lo que se le relaciona ampliamente con el desarrollo de enfermedades crónicas y enfermedades degenerativas como el cáncer, artritis, desórdenes autoinmunes, enfermedades cardiovasculares y enfermedades degenerativas ^{41, 42}.

- Peroxidación lipídica

Las membranas celulares están compuestas principalmente de lípidos por lo que son un punto de ataque primario de los radicales libres, principalmente reaccionando con las cadenas polinsaturadas específicamente en los dobles enlaces de estas ^{45,46}, los principales radicales encargados de generar el daño a lípidos son el $\text{OH}\cdot$, y el hidroperóxilo ⁴⁵.

La peroxidación se da en tres pasos principales: la iniciación que corresponde a la interacción del radical con la cadena lipídica provocando la pérdida de un átomo de hidrógeno de esta, generando el radical lipídico ($\text{L}\cdot$); el segundo paso se conoce como propagación, en el que se adiciona un átomo de oxígeno formando radical lipídico peróxido ($\text{L-OO}\cdot$), el cual reacciona con otra cadena lipídica capturando un átomo de hidrógeno de ésta, formando el radical hidroperóxido (L-OOH) y un nuevo radical lipídico ($\text{L}\cdot$), generando el radical peroxil; por último, el tercer paso es su

interacción con antioxidantes donadores de hidrógeno para formar productos no radicales y oxígeno ^{45,46}.

Los lípidos considerados dentro de los poliinsaturados que representan el mayor punto de ataque de la peroxidación se encuentran los omega 3 y 6; el ácido araquidónico está dentro del grupo de la omega 6. El ácido araquidónico sufre los cambios en su estructura mediado por la peroxidación, liberando productos de esta como lo son el MDA, 4-HNE principalmente, aldehídos que generan la inestabilidad de la membrana lipídica ⁴⁵.

- Oxidación de proteínas

Los radicales libres generan daño a las proteínas de tres formas: atacando directamente a los residuos aminoacídicos, mediante sus cofactores y por peroxidación lipídica. Los aminoácidos que contienen sulfuro (metionina y cisteína) en su composición son sensibles a la oxidación generada por radicales libres, generando intermediarios sulfóxidos Prot-Met-SO, de la misma forma con las cisteínas, que forman el intermediario Prot-Cys-SOH, estos intermediarios pueden volver a reducirse y mantener su integridad por medio de las enzimas metionina sulfóxido reductasa y la sulforedoxina; sin embargo en un estado de estrés oxidativo estos sistemas de reparación no son eficientes, llevando a la formación de proteínas de ácido sulfónico (Prot-Cys-SO₃H) y la formación de proteínas carboniladas (Prot-C=O), cuya conversión es imposible. Por lo que en caso de estrés oxidativo se ve un aumento de estos productos de oxidación de proteínas ⁴⁷.

4.6 ARSÉNICO Y PRODUCCIÓN DE ESTRÉS OXIDATIVO

La toxicidad del As se le ha atribuido a su capacidad de producir EROs con su consiguiente generación de estrés oxidativo. Se han propuesto diferentes vías por las cuales el As ejerce su toxicidad siendo la vía de las metilaciones sucesivas una de las más estudiadas, sin embargo, se le ha atribuido otros mecanismos mediados por la producción de especies reactivas como la alteración de las señales de transcripción, la inducción de la apoptosis, la alteración de la actividad mitocondrial,

alteración de la actividad enzimática, así como el daño en los sistemas de defensa antioxidante del organismo ⁴.

La generación de EROs por medio de las metilaciones sucesivas del As se dejó en evidencia en diversos estudios como el de Santra *et al.* ⁴⁸ en el cual se demostró la generación del O₂⁻ y H₂O₂ después que líneas celulares fueron expuestas a As. Al igual que Yamanaka *et al.* ⁴⁹ demostró la capacidad de daño celular del AsI mediado por la trimetilarsina derivado del metabolismo del DMA, compuesto volátil derivado del metabolismo del As siendo este potenciado en presencia de oxígeno.

Se sabe que los EROs son también moduladores de ciertas señales encargadas de la transcripción y transducción en el organismos por lo que las vías más afectadas son los sistemas de fosforilación de la tirosina, sistema encargado de la comunicación y crecimiento celular, como consecuencia de su activación esta genera la estimulación del receptor del factor de crecimiento (EGFR) cuya fosforilación desencadena la cascada de la MAPKs (proteína quinasas activadas por mitógenos), sistema encargado de la transducción de señales, involucrado en la apoptosis, diferenciación y transformación celular ⁴.

En el estudio realizado por Felix *et al.* ⁵⁰ se demostró la activación del Factor Nuclear kB (NF-kB) y el proteína activador 1 (AP-1), factores de transcripción conocidos por ser factores de respuesta ante el estrés; desencadenando la respuesta pro inflamatoria; en este caso generado por la producción de EROs de debido a la exposición a arsenito de sodio (0-10μmol) a células cerebrales.

Al igual que se demostró que el mecanismo de apoptosis estaba mediada por la activación de la cascada de las caspasas, esto fue probado al exponer líneas celulares MA10 a arsenito de sodio y DMA; se encontró que el AsI tenía más capacidad en la apoptosis celular que el DMA ⁵¹.

La depleción del GSH ha demostrado ser uno de los mecanismos por los que el As género su efecto genotóxico, en el estudio realizado por Liu *et al.* ⁵² la depleción del

GSH evidenció el aumento de las mutaciones del CD 59 provocado por la exposición a As.

La mitocondria es el centro de ataque del As por lo que su integridad es afectada, la producción de peroxinitrito ha sido un indicador de esta afectación, ya que este se forma de la unión del O_2^- y óxido nítrico; por lo que un incremento en este radical puede llevar a la conclusión del aumento del O_2^- en el medio ⁴. En el estudio realizado por Bunderson *et al.*⁵³ se evidenció un incremento de peroxinitrito al exponer a líneas celulares a As, lo que se evidenció también fue el incremento de la expresión de la COX 2 y un aumento de las prostaglandinas 2, mediadores de la inflamación en enfermedades como la aterosclerosis .

4.7 ENFERMEDADES RELACIONADAS AL ARSÉNICO

El tiempo de exposición y la concentración a la que el individuo está expuesto son los pilares esenciales para el desarrollo de enfermedades relacionadas a la exposición al As.

4.7.1 Exposición aguda

En el caso de la exposición aguda al As, se da principalmente en el ambiente laboral, por la ingesta accidental o provocada de pesticidas u otros materiales que contengan As ^{21, 54,55}.

Las principales manifestaciones que se presentan frente a una intoxicación aguda son: malestares gastrointestinales como, dolor intenso abdominal, náuseas, vómitos, diarrea como “agua de arroz”; en la piel, se presenta rash cutáneo, falla renal, complicaciones hepáticas, pulmonares y neuropatía periférica. Como en el caso reportado Stenehjem *et al.*⁵⁵, en el que una mujer de 39 años con concentraciones de As en suero y orina eran de 290 $\mu\text{g As/Kg}$ and 2000 $\mu\text{g As/L}$ respectivamente, generó todos los síntomas descritos previamente.

4.7.2 Exposición crónica

Se ha evidenciado la relación de la exposición crónica al As con enfermedades como la hipertensión, isquemia, diabetes, arterioesclerosis, neuropatías ⁵⁶⁻⁵⁸ y al tener como mecanismo de toxicidad la generación de radicales libres se le ha relacionado con varios tipos de cáncer; es por esto la IARC declara al As como un carcinógeno ³⁷.

- Lesiones cutáneas

Los primeros síntomas de la exposición prolongada de AsI (a través del consumo de agua y alimentos contaminados) se observan generalmente en la piel e incluyen cambios de pigmentación, lesiones cutáneas, durezas y callosidades en las palmas de las manos y las plantas de los pies (hiperqueratosis). Aproximadamente son 5 años, según la OMS ¹, a la que se debe exponer el individuo como mínimo para desarrollar las lesiones cutáneas.

En América Latina la exposición crónica al As a través del agua de consumo se ha venido estudiando desde principios del siglo 20, principalmente en Argentina, nombrando a los primeros efectos relacionados a la exposición prolongada al As como enfermedad de Belle Ville al que posteriormente se le conocería como Hidroarsenicismo Crónico Regional Endémico ⁵⁹, estas lesiones se presentan como pigmentaciones en la piel.

Sin embargo, en la actualidad hay muchos países que tienen este problema, entre ellos Chile, quien reportó sus primeros casos de lesiones cutáneas por consumo de As en 1923, de la misma forma países como México, Taiwán, Bangladesh, entre otros ⁵.

- Enfermedades cardiovasculares

Se han realizado estudios que relacionan las enfermedades cardiovasculares como la hipertensión, aterosclerosis, cardiopatía, enfermedad vascular periférica (Enfermedad del Black Foot). Chen *et al.* ⁶⁰ encontraron; al realizar un estudio en

una población de Bangladesh expuesta por el agua de consumo, una relación positiva con respecto a la hipertensión sistólica y el aumento del pulso cardiaco, esta relación se hizo incluso más notoria en pobladores con bajo consumo de folatos y vitamina B.

De la misma forma en el estudios realizado por Islam *et al* ⁵⁶. Se encontró una relación positiva entre el consumo de As en el agua y el aumento del ritmo cardiaco, se encontró que esta relación se hacía más fuerte cuando la exposición era a concentraciones de As elevadas y con mayor tiempo de exposición.

- Hepatotoxicidad y Nefrotoxicidad

De acuerdo a la toxicocinética del arsénico, el hígado y el riñón son órganos indispensables para el metabolismo del arsénico y es por este mismo motivo que estos órganos son sensibles al daño provocado por el As.

En el estudio realizado por Reddy *et al* ⁶¹ se expuso a células hepáticas de ratas Wistar tratadas con arsenito de sodio, se evidenció la elevación de marcadores de estrés oxidativo en las células hepáticas, demostrando su toxicidad.

Se ha evidenciado que la elevación de arsenito provoca el aumento de la lipoperoxidación y el daño celular del riñón mediado por el incremento de la expresión de la heme oxidasa 1 y la protein quinasa activada por mitógeno. Incrementando el daño celular con la deficiencia de folato ⁶¹.

- Diabetes Mellitus

El AsI reemplaza a los grupos fosfatos del ATP lo que provoca la formación de ADP-arsenato, disminuyendo el metabolismo de la glucosa; de esta misma forma interfiere en la formación de insulina ATP-dependiente. Se ha descrito que el As disminuye la actividad de la glucosa 6 fosfato, tanto en hígado como en riñón, generando de esta forma hipoglucemia ^{40,62}.

- Carcinogenicidad

La IARC considera al As y a los compuestos inorgánicos del As como carcinógeno como humanos, esto debido a los estudios realizados en poblaciones,

encontrándose una relación positiva entre la exposición crónica al As y la mortalidad o el aumento del riesgo de padecer cáncer ¹⁶.

El mecanismo por el que genera esta malignidad se propone es debido al incremento de radicales libres y el daño que provoca la activación de factores de transcripción, afectando la expresión de genes que intervienen en la adhesión celular, apoptosis, migración celular y la carcinogénesis; es por este motivo que el As es considerado un pro carcinógeno ⁶².

Los primeros casos reportados de la carcinogenicidad del As fueron en Bangladesh, en los que se encontró relación con cáncer de piel, pulmón, riñón, hígado y vejiga ²¹.

En Latinoamérica se han realizado estudios en poblaciones de Chile, Argentina ^{16,63} en los que se encontró relación positiva entre la exposición a As por el agua de consumo y la mortalidad por cáncer de riñón, pulmón y vejiga.

Se ha descrito que el metabolismo del As afecta considerablemente a las enzimas metabolizadoras de EROs como el SOD, CAT, glutatión peroxidasa (GPx), GST y la glutatión reductasa, de la misma forma que altera la actividad de la tiorredoxina reductasa, NADPH reductasa ⁴.

4.8 BIOMARCADORES

Los biomarcadores son moléculas o sustancias que se miden para verificar si un organismo está alterado o no. Se dividen en tres tipos:

4.8.1 Biomarcadores de exposición al arsénico

Permite determinar la presencia de un agente externo o tóxico en el organismo.

- **Orina**

La orina es la principal vía de excreción del As, es detectable durante 4 días ^{37,64}, contando que el 70 al 80% de As se elimina vía renal. El As en orina es el marcador más usado para medir la exposición por el agua de consumo ya que se ha encontrado relación entre ambos ^{37,38}, debido a la facilidad de colección, por ser una matriz menos compleja. El AsT es expresado en µg/g creatinina. Sin embargo, existe un riesgo al medir el AsT, y es que la ingesta de alimentos altera los resultados, es por esto que al momento de tomar las muestras se debe asegurar de no haber ingerido pescados, mariscos y moluscos por lo menos 48 horas antes de la toma de muestra ^{10,64}.

- Sangre

Los picos de concentración en sangre se dan luego de unas horas de exposición, luego esto tiende a disminuir rápidamente, por lo que no se le considera un buen marcador ante exposición por agua de consumo. La alta carga orgánica que presenta la sangre la convierte en una matriz más complicada para trabajar. De la misma forma que el As en orina la ingesta de alimentos ricos en As puede llevar a un mal monitoreo. En sangre se ha descrito un rango de 0,5 a 2µg/L de As ^{10, 37,64}.

- Pelo y uñas

El As tiende a acumularse en pelo y uñas por su gran afinidad con los grupos sulfhidrilos, grupos que tiene en gran cantidad de queratina. El lento crecimiento del pelo lo hace un reservorio por lo que se le considera un buen indicador de exposiciones crónicas. Las concentraciones normales de As en cabello son menores a 1µg/g peso seco y en uñas en un rango de 1,5 a 7,7 µg/g. Las complicaciones con este tipo de muestras es que puede contaminarse con As proveniente del aire o de la tierra, interfiriendo con la medida ^{10,64}.

4.8.2 Biomarcadores de Efecto del arsénico

Son los marcadores que representan la interacción entre el As y sus órganos o moléculas dianas. Principalmente se miden parámetros para detectar el daño del ADN.

- **Presencia de micronúcleos**

En un estudio realizado en un grupo de 40 ratas machos saludables, las cuales fueron tratadas con 50 mg/L de As en agua, se analizó la presencia de micronúcleos en tejido hepático, demostrándose un aumento de los micronúcleos como consecuencia de la activación de la caspasa-8 y en consecuencia la apoptosis ⁶⁵.

- **Enlace cruzado de proteínas de ADN**

Se ha evidenciado un aumento de este tipo de daño en células de hígado y riñón en ratas expuestas durante 30 días a concentraciones de 100 mg/L de As en su agua de consumo ⁶⁶.

- **Aductos de oxidación de ADN**

La presencia de cadenas insaturadas de purina y pirimidina en las cadenas de ADN lo hace sensible al ataque de radicales libres o a fallas en por el ataque de las enzimas reparadoras de ADN. La guanina presenta mayor sensibilidad de entre los nucleótidos afectados por el estrés oxidativo, por lo que se ha estudiado marcadores derivados de esta como el 8- hidroxiguanina, 8-hidroxiguanosina, y 8-hidroxi-2-deoxiguanosina (8-OHdG). El 8-OHdG se forma debido a la agregación de un grupo hidroxil en la posición número 8 de la molécula de la guanina ⁶⁷. Se evidenció la elevación de 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8 OHdG), en ratas Wistar albinas administradas con arsenito de sodio, en los que se demostró que el té negro y verde funcionaba como protector contra el ataque de estrés oxidativo al ADN ⁶⁸.

4.8.3 Biomarcadores de Susceptibilidad al arsénico

Es el marcador que mide la diferencia entre poblaciones o individuos de generar enfermedades relacionadas a la exposición al As; de entre los principales puntos que generan la susceptibilidad se encuentran los polimorfismos de genes envueltos en el metabolismo del As, estilo de vida y factores nutricionales. Se ha demostrado polimorfismos en genes de respuesta ante el estrés oxidativo como el polimorfismo en glutatión-S-transferasa y en genes de reparación de ADN como en la 8-oxoguanina DNA glicosilasa (OGG1) ⁶⁹.

4.8.4 Biomarcadores de estrés oxidativo para el arsénico

Teniendo en cuenta que el estrés oxidativo es una de las principales vías de toxicidad del As se pueden contar con marcadores de esta toxicidad; siendo los indicadores primarios el incremento ROS en los principales fluidos biológicos. Se podría utilizar la detección de ROS por fluorescencia, sin embargo debido a la metodología esto se hace complicado ⁴.

Por lo tanto se puede emplear como marcadores las actividades de las enzimas antioxidantes y la cuantificación de los metabolitos finales de la oxidación de lípidos, proteínas y ácidos nucleicos.

- Actividad enzimática antioxidante

Las enzimas metabolizadoras de ROS son uno de los puntos principales de ataque del As, siendo de las más afectadas la SOD, CAT, glutatión peroxidasa (GPx), GST, y glutatión reductasa (GR) ^{4,65}. En general, la exposición a corto plazo a bajas concentraciones de As se traduce en un aumento de la actividad de estas enzimas, mientras que la exposición crónica generalmente resulta en su reducción ⁴. Se ha demostrado que el daño provocado por EROs en líneas celulares deficientes de CAT en presencia de As potencia su toxicidad ^{4,56}, de igual forma se demostró que al exponer a As a concentraciones altas durante un tiempo prolongado conlleva a la depleción del GSH debido a que este se usa principalmente como donar de electrones en el metabolismo del As. En el estudio realizado por Santra *et al* ⁴⁸ se sometió a ratas a un consumo de As en el agua de 3,2 mg/L, encontrándose una depleción de GSH hepáticos después de tres meses de consumo.

- Oxidación de Biomoléculas

Los ROS generan importantes daños en biomoléculas principales de nuestro cuerpo como son los lípidos y proteínas, por lo que los derivados de estos daños pueden ser usados como indicadores también de estrés oxidativo provocado por el As ⁴.

○ Peroxidación lipídica:

Se han realizado estudios en modelos animales demostrando el aumento de lípidos plasmáticos derivados de la peroxidación lipídica ^{65, 70,71}. Según Flora ⁴, los ácidos grasos poliinsaturados son más sensibles a los daños por radicales libres, generando derivados aldehídos medibles en plasma u orina, como el MDA, HNE y 2-propenal, (acroleína) e isoprostanos, siendo considerados como marcadores de estrés oxidativo.

○ Oxidación de proteínas:

Según Flora el daño inducido por el As a las proteínas se puede medir mediante los residuos carbonilos formados a partir de las proteínas ⁴, sin embargo, Witko Sarsat *et al.* propusieron en su estudio, que la formación de productos avanzados de oxidación de proteínas (PAOP), era un marcador para el daño provocado por el estrés oxidativo de las proteínas ⁷². La ventaja de este marcador es la estabilidad y mayor vida media que otros marcadores ⁷³.

4.9 REGULACIONES DE EXPOSICIÓN A ARSÉNICO

Las regulaciones con respecto a la concentración permisible de As en agua cambiaron de 50µg/L a 10 µg/L en el año 2001, según las directrices de la OMS y la EPA, debido a que estudios reflejaban un incremento de muertes por cáncer a esa concentración de As. El cambio se hizo efectivo en el 2006 ^{1,74}. El Perú se regula según el Reglamento de Calidad del Agua para Consumo Humano (DS N° 031-2010-SA) ⁷⁵.

4.10 LÍMITES DE TOLERANCIA BIOLÓGICA

Para el Perú, el límite de tolerancia biológica de exposición está regulada según la guía técnica emitida por el Ministerio de Salud (RM N° 389-2011 MINSA) considerando como biomarcador de exposición al As en orina, cuyo límite de exposición ocupacional en orina es de 100 µg/L o menor a 50 µg/g creatinina; y en expuestos no ocupacionalmente es de 10 a 50 µg/L o menor a 20 µg/g creatinina⁷⁶.

De acuerdo a un estudio realizado en el 2010 por Hays *et al.*⁷⁷ se ha estimado que valores de As en orina por encima de 20 µg/L o 25 µg/g creatinina, se debe considerar de riesgo. Al ser información más actualizada en el presente trabajo se utilizará este límite de tolerancia biológica.

5. METODOLOGÍA

La presente tesis se desarrolló en el marco del estudio de investigación: *“Evaluación de biomarcadores de enfermedad hepática, cardiovascular y genotoxicidad en pobladores del departamento de Junín expuestos a altos niveles de As por consumo de agua”*, con código A170400361 y resolución rectoral RR-04274-17, subvencionada por el Vicerrectorado de Investigación de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

5.1 Tipo de investigación

Estudio descriptivo, transversal y correlacional.

5.2 Consideraciones éticas

El estudio de investigación se realizó de acuerdo con la declaración de Helsinki II (2013), contando con el protocolo de estudio aprobado por el Comité de Ética de la Facultad de Farmacia y Bioquímica- UNMSM (Anexo 1). El contacto con los sujetos de estudio se hizo a través de las Municipalidades y los Centros de Salud de los Centros poblados de Molinos y Apata quienes se encargaron de convocar a la población, el equipo de estudio realizó la exposición de los objetivos y alcances de la investigación invitando a los sujetos interesados a participar del estudio. Para ser considerados parte del grupo de estudio, los sujetos firmaron el consentimiento informado.

5.3 Área de estudio y población

El estudio se realizó en el mes de julio del 2018, en dos centros poblados pertenecientes a la Provincia de Jauja en la región Junín. Los centros poblados de los distritos de Molinos y Apata seleccionados fueron considerados como grupo expuesto y control respectivamente. Ambos lugares se caracterizan por encontrarse a más de 3300 m.s.n.m., con clima templado y frío con poca humedad, precipitaciones fluviales de 70 mm en promedio durante los meses de diciembre a marzo con temperaturas entre 11 y 18 °C ⁷⁸. El agua captada para el consumo doméstico en el distrito de Molinos proviene del manantial Punkumachay ubicado

en el anexo de Quero ⁷⁹ y el de Apata proviene de la sub cuenca hídrica del Río Seco. En la figura 3 se especifica la ubicación geográfica de ambos centros poblados.

La población estimada según el Censo 2017 del Instituto Nacional de Estadística e Informática (INEI) del Centro poblado de Molinos fue de 631 y en Apata 1206 pobladores ⁸⁰.

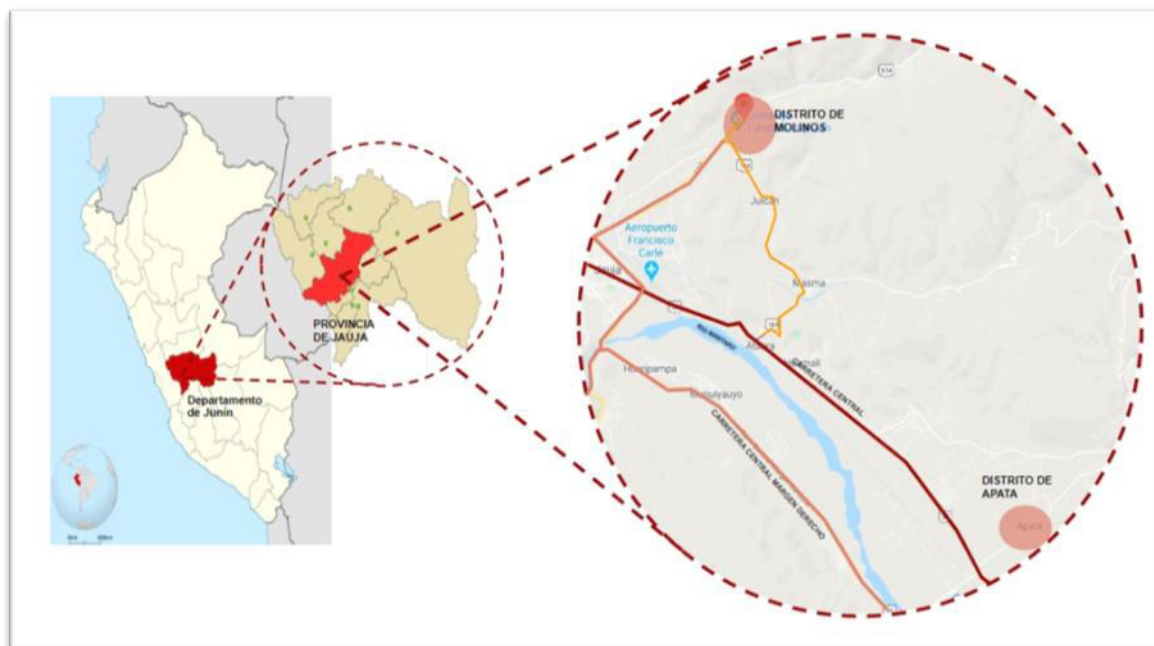


Figura 3 Ubicación geográfica del distrito de Molinos y Apata.

Fuente: Elaboración propia.

Ubicados en la provincia de Jauja, departamento de Junín; El Distrito de Molinos ubicado en una Lat. 11°44'00" y a una Long. 75°26'37", altitud 3430 m.s.n.m. La extensión geográfica es de 312.17 Km2. Distrito de Apata ubicado a una Lat. 11°51'09" y Long. 75°21'10", y a una altitud de 3359 m.s.n.m ⁸¹

5.4 Muestra y Muestreo

El muestreo fue por conveniencia, conformado por los individuos que firmaron el consentimiento informado y que reunieron los criterios de inclusión.

- Criterios de inclusión:
 - Mayor de 18 años

- Residencia mayor de cinco años en Molinos
 - Venir en ayunas y traer la primera orina
 - No consumir pescado ni derivados 5 días antes del muestreo.
- Criterios de exclusión:
 - Presentar alguna enfermedad renal
 - Mujeres embarazadas

Los datos de los participantes fueron recolectados mediante una encuesta, en la cual se consideraron:

- Datos demográficos
- Medidas antropométricas
- Datos de exposición
- Hábitos nocivos
- Hábitos alimenticios
- Antecedentes patológicos

Las muestras para la presente investigación estuvieron conformadas por muestras de agua y orina para la determinación de As, muestras de sangre para determinar los marcadores de estrés oxidativo.

- **Recolección de muestras de agua**

Las muestras de agua fueron recolectadas en Molinos y Apata. En Molinos se recolectaron en 5 puntos el primer punto fue en el anexo de Quero, en el reservorio Punkumachay (de donde se abastece Molinos de agua potable), ubicado a 3860 m.s.n.m., el segundo punto fue la reserva Huanchaspuquio, ubicado a 3700 m.s.n.m., y en 2 casas de los pobladores, donde recolectó el agua directamente de la red de abastecimiento de agua potable, ubicado a 3400 m.s.n.m.

En el caso de Apata las muestras de agua, fueron tomadas en 3 casas de los pobladores del Distrito, directamente de la red de abastecimiento de agua potable.

Las muestras de agua se colectaron en recipientes de polietileno previamente lavados con ácido nítrico al 10%, los frascos se dejaron remojando durante 24 horas para posteriormente ser enjuagados con agua ultrapura. Se trabajó con un blanco de campo y de viaje, el blanco de campo fue llenado en los puntos de muestreo y el blanco de viaje fue llenado en el laboratorio y se almacenó en el mismo cooler que los frascos de muestra; los frascos de muestra fueron tomados por duplicado y se le agregó 1 mL de ácido nítrico al momento de la recolección. La toma de muestra se realizó de acuerdo al protocolo dispuesto por DIGESA (Métodos Normalizados para el Análisis de Aguas Potables y Residuales – American Public Health Association, American Water Works, Association Water Pollution Control Federation 20th Edition, 1998) ⁸². En los puntos de muestreo los frascos limpios con 1 litro de capacidad se abrieron e inmediatamente se sumergieron 20 cm aproximadamente para su llenado, en el caso de los 2 primeros puntos el llenado fue en los riachuelos formados por la salida del agua de los reservorios por lo que el llenado fue en contra del flujo de agua. Se le agregó 1 mL de ácido nítrico y se procedió a almacenar en un cooler manteniendo la cadena de frío.

Luego de la toma de agua, las muestras se mantuvieron en depósitos con gel pack cuidando la cadena de frío de las muestras, hasta llegar al laboratorio de Bioquímica Toxicológica donde se almacenaron a -20 °C hasta enviarlo a analizar a Blufstein Laboratorio Clínico.

- Recolección de Muestras Biológicas

Para la recolección de muestras de orina y sangre los participantes fueron atendidos en los respectivos Centros de Salud a donde acudieron a primera hora de la mañana portando la primera orina.

- Muestra de orina

Previo a la toma de muestra de orina los participantes recibieron un frasco estéril de polipropileno y las indicaciones para colectar la primera micción de la mañana y las condiciones de higiene para asegurar la viabilidad de la misma. Una vez recolectada la muestra se codificó debidamente y se fraccionó en frascos estériles de polipropileno de 15 mL por triplicado y se refrigeró inmediatamente a 4°C hasta

llegar al laboratorio de Toxicología Bioquímica donde se almacenó a -20°C hasta su análisis.

- **Muestra de sangre**

Los participantes del estudio se presentaron a primera hora de la mañana en condiciones de ayuno absoluto (12 horas previas) y sin haber realizado actividad física. Las muestras sanguíneas fueron obtenidas mediante punción venosa del antebrazo previa asepsia, se recolectaron en tubos de ensayo con heparina. Las muestras se centrifugaron a 5000 rpm/min por 5 minutos y se separó el paquete globular y el plasma inmediatamente en microtubos de 1,5 mL, se conservaron refrigeradas en un depósito para su transporte al laboratorio de Toxicología Bioquímica donde se conservaron a -20 °C hasta su posterior análisis.

5.5 Determinación de Arsénico

Se determinó el As como biomarcador de exposición en agua y orina, para ello se utilizó una Solución Trazable Patrón de As de NIST (ácido de arsénico, H_3AsO_4 en ácido nítrico) de Certipur 1000mg/L (Merck Millipore, Alemania), ácido ascórbico, yoduro de potasio (Merck Millipore, Alemania), hidróxido de sodio, borohidruro de sodio 98% de pureza (Sigma Aldrich), ácido clorhídrico 37%, ácido nítrico 65% para análisis ambos de Merck Millipore, Alemania.

Las muestras de agua y orina pasaron por digestión ácida previa a su análisis, utilizando el horno microondas Milestone Ethosone, siguiendo los parámetros para muestras acuosas de la EPA 3015 ⁸³. El análisis de As se llevó a cabo por Espectrofotometría de Absorción Atómica con Generador de Hidruros, utilizando el Espectrómetro Perkin Elmer AAnalyst 400 acoplado al Sistema Generador de Hidruros FIAS 100, se utilizó una lámpara EDL de As. La cuantificación de As se realizó mediante el uso del reductor borohidruro (Borohidruro al 0,2% e Hidróxido de Sodio al 0,05%), en presencia de ácido clorhídrico diluido (10%) para la formación de hidruros volátiles ⁸⁴.

Se preparó una curva de calibración como se indica en la tabla 1, a partir de una solución de 100 µg/L (100ppb) en fioles de 50mL.

Tabla 1 Curva de calibración arsénico

Concentración de estándar (µg/L)	Volumen de estándar (mL)	Reductor de Digestión: Yoduro de Potasio al 5% y Ácido ascórbico al 5% (mL)	Ácido clorhídrico concentrado (mL)
0	0	5	5
1	0,5	5	5
2	1	5	5
5	2,5	5	5
10	5	5	5
20	10	5	5

Fuente: Elaboración propia

Se dejó reposar durante 45 min y se agregó c.s.p 50 mL de agua ultrapura.

La absorbancia del mayor de los puntos fue 0,69.

Luego de obtener la solución de la digestión tanto de agua, como de orina, se procedió a la preparación para lectura como se ejemplifica en la tabla 2:

Tabla 2 Preparación de muestra: Agua y Orina

Muestra	Volumen de muestra (mL)	Reductor de Digestión. (mL)	Ácido clorhídrico conc. (mL)
Agua	1	1	1
Orina	1	1	1
Controles de calidad	1	1	1

Fuente: Elaboración propia

Se dejó reposar durante 45 min y se agregó 6 mL de agua ultrapura y 1 gota de antiespumante.

Para asegurar los controles de calidad internos en el análisis de orina se utilizó los controles de la casa matriz BIORAD (BIORAD Laboratories, USA), Urine Metals Lypocheck lote 69190, la preparación de los controles internos fue con el mismo procedimiento que las muestras de orina y agua.

5.6 Determinación de marcadores de estrés oxidativo

5.6.1 Determinación de proteínas de oxidación avanzada (PAOP)

Se utilizó el método propuesto por Hanasad *et al.*⁸⁵ Para la determinación de las PAOP, se hace uso del ácido cítrico y su habilidad para solubilizar los lípidos, evitando de esta forma la precipitación de estos. Se utilizaron muestra de plasma por duplicado y se construyó la curva de calibración a partir de un estándar de cloramina T (Cloramina T trihidrato para análisis). Tanto la Cloramina como el yoduro de potasio se obtuvieron de Merck.

Las unidades en las cuales se expresó el PAOP fueron los $\mu\text{moles/L}$ de equivalentes de cloramina T, que finalmente abreviando se expresaron como $\mu\text{moles/L}$.

- Método operatorio

En la tabla 3 se explica la preparación de la curva de calibración que se creó a partir de Cloramina T de 1 mmol/L (1000 $\mu\text{mol/L}$) preparada en agua.

Tabla 3 Preparación de la curva de Calibración de Cloramina T

Concentración de estándar ($\mu\text{mol/L}$)	Volumen de estándar (μL)	Volumen de ácido cítrico (μL)
40	40	960

60	60	940
80	80	920
100	100	900
200	200	800
300	300	700
400	400	600

Fuente: Elaboración propia

Tabla 4 Tratamiento de muestra y estándares.

	Volumen (μ L)	Ácido cítrico (μ L)	Yoduro de Potasio (μ L)	Volumen Final (μ L)
Blanco	-	190	10	200
Muestra	3,5	180	10	193,5
Estándar	190	-	10	200

Fuente: Elaboración propia

Al no tener el volumen final común los estándares y las muestras, se tomó como volumen en común de trabajo de 0,1mL. En la tabla 5 se explica el proceso de adecuación de volúmenes.

Tabla 5 Curva Cloramina T

Estándares (μ moles / mL ácido cítrico)	μ moles /0.190 mL AC	μ moles /0.2 (pocillo)	μ moles /0.1 (pocillo)
0,04	0,0076	0,0076	0,0038

0,06	0,0114	0,0114	0,0057
0,08	0,0152	0,0152	0,0076
0,1	0,019	0,019	0,0095
0,2	0,038	0,038	0,019
0,3	0,057	0,057	0,0285
0,4	0,076	0,076	0,038

Fuente: Elaboración propia

Al tener los valores reales de Cloramina T de cada pocillo de trabajo se procedió a construir la curva de calibración en $\mu\text{moles/L}$.

Tabla 6 Curva de calibración $\mu\text{moles/L}$ y absorbancias.

Concentración estándar ($\mu\text{moles/0.1mL}$)	Concentración de estándar ($\mu\text{moles/L}$)	Absorbancia
0,0038	38	0,007
0,0057	57	0,016
0,0076	76	0,03
0,0095	95	0,04
0,0190	190	0,111
0,0285	285	0,185
0,0380	380	0,253

Fuente: Elaboración propia

Las absorbancias de las muestras se trabajaron con la ecuación de la curva de Cloramina T, restando el blanco previamente. El resultado se muestra en la tabla 6. Las muestras se expresaron en $\mu\text{moles/L}$ de Cloramina T.

5.6.2 Determinación de malondialdehído (MDA)

El MDA se analizó en plasma por el método descrito por Buege *et.al.*⁸⁶ por medición de las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) por espectrofotometría. Se tomó 0,08 mL de plasma, se le agregó 0,020 mL del reactivo oxidante (butilhidroxi tolueno-BHT) al 2%, se le agregó 0,01 mL de hidróxido de sodio 10N por 30 min en baño maría a 35 °C, posteriormente se agregó el TBA/TCA/HCl 0,8 mL, se dejó 30 min a 95°C, posteriormente se dejó enfriar con hielo y se centrifugó a 6000 g/10min, se tomó el sobrenadante y se procedió a lectura a 532 nm.

Los resultados expresados en $\mu\text{moles/L}$ de suero de las muestras se obtuvieron a partir de la siguiente fórmula:

$$\epsilon = 156000$$

$$\frac{(\text{Absorbancia}) * 1000000 * (\text{Volumen total})}{(\text{coeficiente de extinción molar}(\epsilon) * (\text{Volumen de suero}))}$$

5.6.3 Determinación de Glutación

El método utilizado fue el propuesto por Hu⁸⁷, método espectrofotométrico basado en la reacción del DTNB (ácido 2,2 ditiobisnitrobenzoico), a una longitud de onda de 412 nm, se construyó una curva de calibración a partir de un estándar de 10mM de Glutación reducido.

Tabla 7 Curva de Glutación

Concentración de estándares	Absorbancia a 412 nm
--------------------------------	----------------------

(nM)	
0,1	0,055
0,2	0,140
0,4	0,274
0,6	0,421
0,8	0,561
1	0,706

Fuente: Elaboración propia

Las absorbancias de las muestras se trabajaron con la ecuación de la curva de Glutación reducido, dándonos el resultado en mM, para obtener el resultado en mM/L suero, se trabajó con los volúmenes utilizados:

$$\frac{(\text{Concentración en mM}) * (\text{Volumen total})}{\text{Volumen de suero utilizado}}$$

Los resultados fueron corroborados utilizando el coeficiente de extinción molar para esta técnica.

$$\epsilon_{\text{mM}} = 0,7062$$

$$\frac{(\text{Absorbancia de la muestra}) * (\text{Volumen total})}{(\text{coeficiente de extinción molar}) * (\text{volumen de suero})}$$

5.7 Pruebas estadísticas

El análisis de datos se realizó mediante el uso del software de estadística IBM SPSS Statistics 23.0 (Statistical Product and Service Solutions). Las pruebas estadísticas utilizadas fueron:

Tablas de Frecuencia y porcentaje para presentar los datos agrupados y ordenados.

Prueba de homogeneidad de Varianza o Test de Levene para comparar varianzas. La prueba del T-student se utilizó para demostrar la igualdad de medias entre los datos sociodemográficos de las dos poblaciones y verificar la diferencia de la concentración de As entre las dos poblaciones. La relación existente entre los niveles de As y los marcadores de estrés oxidativo se evidenció utilizando la correlación de Pearson.

6. RESULTADOS

La concentración de As en el agua que se consume en el distrito de Molinos fue de $47 \mu\text{g/L} \pm 5,2$ (media \pm DS), y en Apata fue de $4,6 \mu\text{g/L} \pm 0,58$ (media \pm DS), como se muestra en la Tabla 1. El agua de la reserva que abastece a Molinos y de las tuberías excede a los límites de la Agencia de Protección Ambiental de los EE. UU (EPA) ⁷⁴ y el Límite recomendado por la OMS ¹ de $10 \mu\text{g/L}$. según el Reglamento de Calidad del Agua para Consumo Humano (DS N° 031-2010-SA) ⁷⁵.

Tabla 8 Concentración de arsénico en muestras de Agua de consumo en los Centro Poblados de Molinos y Apata (2018)

Molinos	Concentración As ($\mu\text{g/L}$)
Reservorio Punkumachay (Quero)	53
Reservorio Punkumachay (Quero) 2	45
Reservorio Huanchaspuquio	44
Centro Campestre	54
Casa (centro poblado)	40
Apata	Concentración As ($\mu\text{g/L}$)
Casa 1 (centro poblado)	5
Casa 2 (centro poblado)	4

Fuente: Elaboración propia

6.1 Características Sociodemográficas de la población

En el presente estudio participaron un total de 69 pobladores en el Centro poblado de Molinos (población expuesta) y 35 en el Centro poblado de Apata (población control). Casi el 90 % de la población manifestó vivir en el lugar de procedencia por más de 10 años (ellos manifestaron residir desde su nacimiento), los datos se presentan en la figura 4.

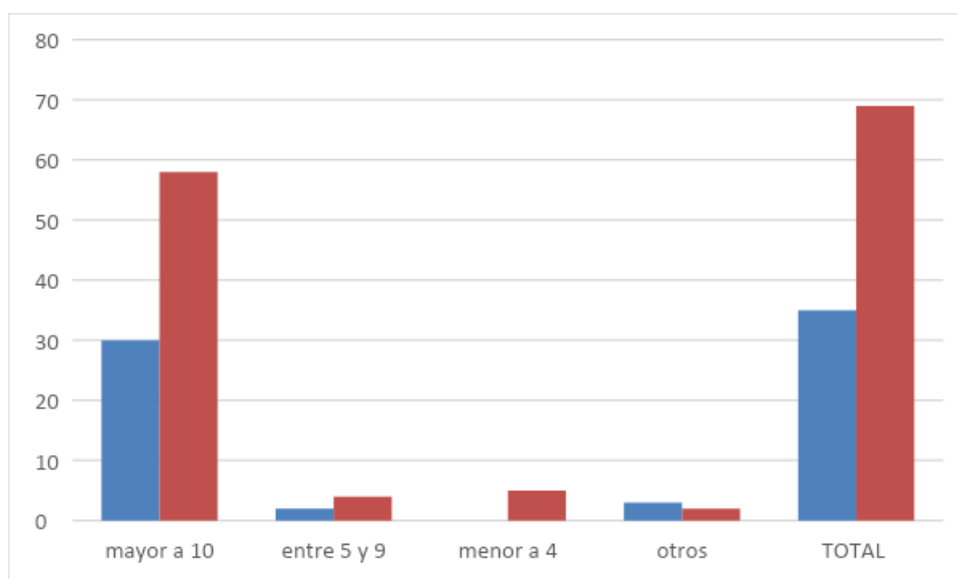


Figura 4 Distribución de las poblaciones en estudio por años de residencia.

Fuente: Elaboración propia

La distribución de las características sociodemográficas de ambas poblaciones se presenta en la Tabla 9. La población mayoritaria que participó del estudio fue la población femenina en ambos poblados y la edad promedio fue de 49 años para el grupo control y 47 para el grupo expuesto siendo el grupo entre 18 y 40 años de mayor participación.

Tabla 9 Características Sociodemográficas del Grupo control y expuesto.

Parámetros	Grupo Control	Grupo expuesto
Población total (N)	35	69
Masculino (N, %)	8 (22,9)	17 (24,6)
Femenino (N, %)	27 (77,1)	52 (75,4)
Edad (años, media \pm DS)	49,0 \pm 16,26	47,00 \pm 15,88
Grupo etario años (N, %)		
18-32	5 (14,29)	16 (24,24)
33-47	13 (37,14)	20 (30,30)
48-62	10 (28,57)	15 (22,73)
≥ 63	7 (20)	15 (22,73)
Uso de Tabaco (N, %)		
Fuma	3 (8,6)	7 (10,15)
No fuma	32 (91,4)	62 (89,85)
Consumo de Alcohol (N, %)		
1-2 veces por mes	1 (3,2)	4 (6,2)
1-2 veces por año	10 (29)	15 (21)
No consume	24 (67,8)	50 (72,8)

Residencia en años

(N, %)

mayor a 10	30 (85,7)	58 (84,06)
entre 5 y 9	2 (5,7)	4 (5,79)
menor a 4	0 (0)	5 (7,25)
otros	3 (8,6)	2 (2,9)

Fuente: Elaboración propia

En cuanto a los hábitos nocivos en la figura 5, se presentan resultados ante la pregunta si tiene el hábito de fumar, aproximadamente 90% de los participantes en ambas poblaciones manifestaron no fumar y el 72,8 % de la población expuesta no consume alcohol.

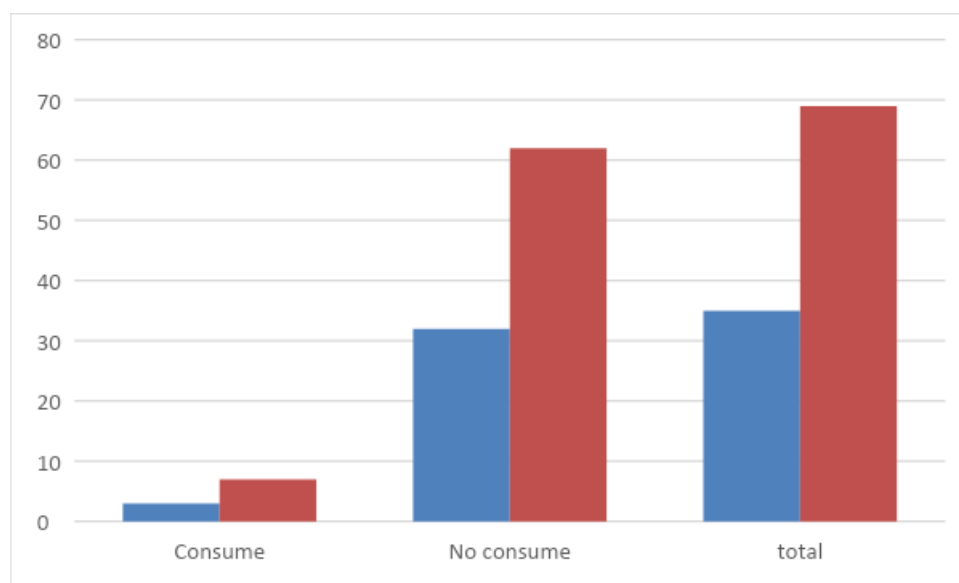


Figura 5 Distribución de las poblaciones según el hábito de fumar.

Fuente: Elaboración propia

La distribución por ocupación de los participantes en ambos poblados se encuentra en la Tabla 10. Las ocupaciones principales en los varones fueron de ganadero seguida de agricultor para el grupo expuesto y en el control fue la de profesional y

agricultor, en tanto para las mujeres la principal actividad fue la de ama de casa en ambos grupos.

Tabla 10 Distribución según ocupación en Grupo control y expuesto.

Ocupación	Grupo Control	Grupo expuesto
Ocupación (N, %)		
Varones:		
Agricultor	2 (25)	4 (23,5)
Ganadero	1 (12,5)	7 (41,2)
Comerciante	0 (0)	2 (11,8)
Profesional	3 (37,5)	1 (5,9)
Otros	2 (25)	3 (17,6)
Mujeres		
Ama de casa	20 (74,1)	45 (86,5)
Agricultor	0 (0)	3 (5,8)
Comerciante	2 (7,4)	0 (0)
Profesional	3 (11,1)	1 (1,9)
Otros	2 (7,4)	3 (5,8)

Fuente: Elaboración propia

En la Tabla 11, se presenta el análisis estadístico para la Prueba de Homogeneidad de varianzas según Test de Levene para las variables años de residencia, edad, sexo y consumo de cigarrillos, el valor p resultó superior a 0,05 para todas las variables por lo que se acepta la hipótesis nula que indica la homogeneidad de varianzas, significando que las características demográficas de las ambas poblaciones son parecidas.

Tabla 11 Prueba de Homogeneidad de varianzas según el Test de Levene.

Parámetros	Residencia	Edad	Sexo	Consumo de cigarro
F	0,69	0,20	0,16	0,03
Sig.	0,41	0,66	0,69	0,87

Fuente: Elaboración propia

$p > 0,05$ varianzas iguales

H_0 : varianzas de los grupos iguales.

H_1 . Varianzas distintas entre los grupos.

6.2 Exposición al Arsénico

La exposición al AsI en la población se determinó por la concentración de arsénico en la orina reportados tanto como As en $\mu\text{g/L}$ y As ajustado por gramo de creatinina. En la Tabla 12 se presentan las concentraciones de As en orina del grupo expuesto se encontró entre 13,75 y 85,50 $\mu\text{g/L}$ con una media de 34,30 $\mu\text{g/L}$, que se encuentra por encima del valor límite de tolerancia biológica para exposición ambiental (20,00 $\mu\text{g/L}$ y 25 $\mu\text{g/g}$ creatina) ⁷⁷.

Tabla 12 Concentración de arsénico en orina en Grupo control y expuesto.

Concentración de As en orina	Grupo Control	Grupo expuesto
N	35	69
As ($\mu\text{g/L}$)		
Media \pm Des. Estándar	4,88 \pm 3,12	34,298 \pm 14,79
Mínimo	0,05	13,75

Máximo	12,46	85,5
As (µg/g creatinina)		
Media ± Des. Estándar	6,53 ± 3,73	34,296 ± 13,71
Mínimo	0,1	10,16
Máximo	14,17	74,52

Fuente: Elaboración propia

En la Tabla 13 se presentan los resultados del análisis estadístico para el test de Levene y la prueba T de homogeneidad de medias. Se puede observar que para As (µg/L), As (µg/g creatinina) el p valor resultó ser menor a 0,05 para el test de Levene por lo que se rechaza homogeneidad de varianzas entre grupo expuesto y control, del mismo modo la prueba T demuestra que existe diferencia estadísticamente significativa entre el grupo expuesto y control ($p < 0,05$), demostrando la exposición al As en los participantes de Molinos considerados como población expuesta.

Tabla 13 Prueba de homogeneidad de varianzas e igualdad de medias de concentración de arsénico entre Grupo control y expuesto.

Igualdad de Varianzas.	Test de Levene		T-test de igualdad de Medias						
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Dif. media	Error Est.	Interv. Confianza-95%	
								Inf.	Sup.
As (µg/L)	29,45	0,00	11,61	102,0	0,00	29,41	2,53	24,39	34,44
As (µg/g creat.)	27,28	0,00	11,74	102,0	0,00	27,76	2,37	23,07	32,45

Fuente: Elaboración propia.

El p valor se obtuvo para las pruebas estadísticas del test de Levene y T test de homogeneidad de medias.

H₀: varianzas de grupos iguales.

H₁. Varianzas distintas entre los grupos.

La figura 6 esquematiza la diferencia de medias y el error entre las concentraciones de As de las dos poblaciones.

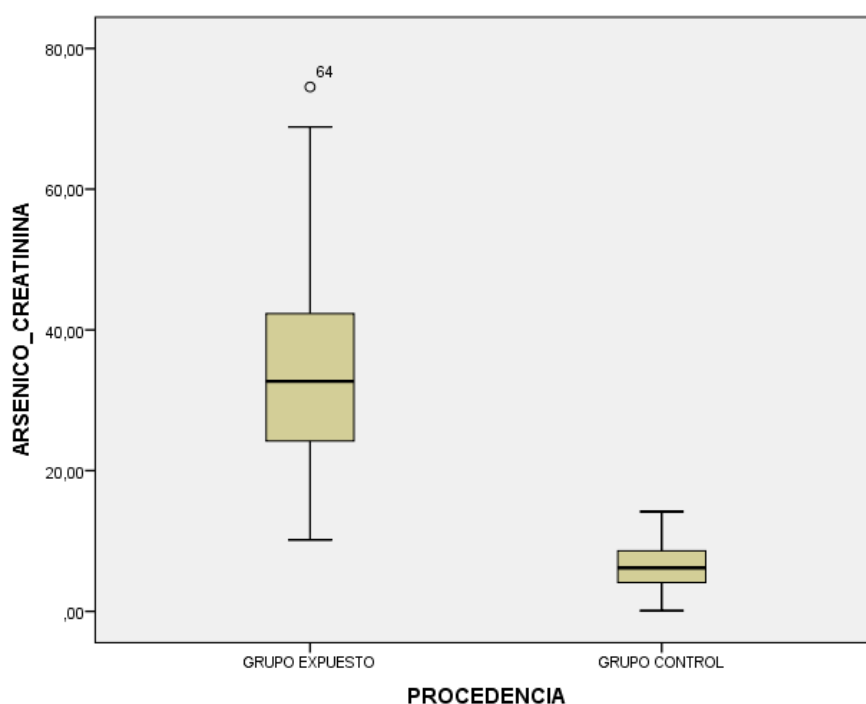


Figura 6 Diagrama de caja para la diferencia de medias entre las concentraciones de arsénico en orina entre el grupo expuesto y control. Fuente: Elaboración propia.

Fuente: Elaboración propia.

$p < 0,05$ para la prueba T.

Las características de la población expuesta, según concentraciones de As en orina se presentan en la Figura 7 y 8. El 72 % de la población presenta niveles de As mayores a 25 μg /g creatinina y el 90% de la población presenta niveles mayores a 20 μg /L de As en orina,

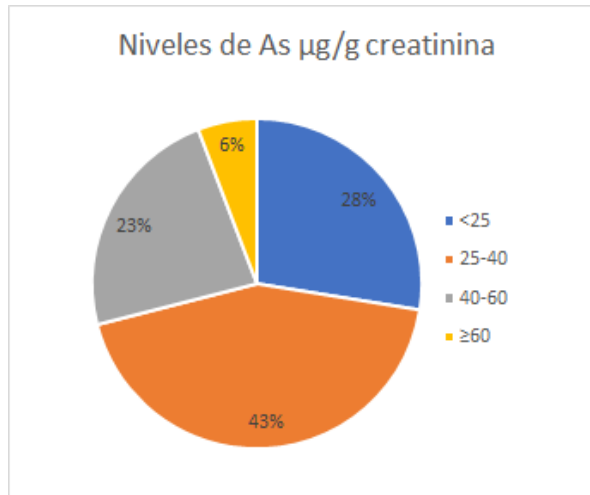


Figura 7 Niveles de As en orina expresada en $\mu\text{g/g}$ creatinina en el Grupo expuesto.

Fuente: Elaboración propia.

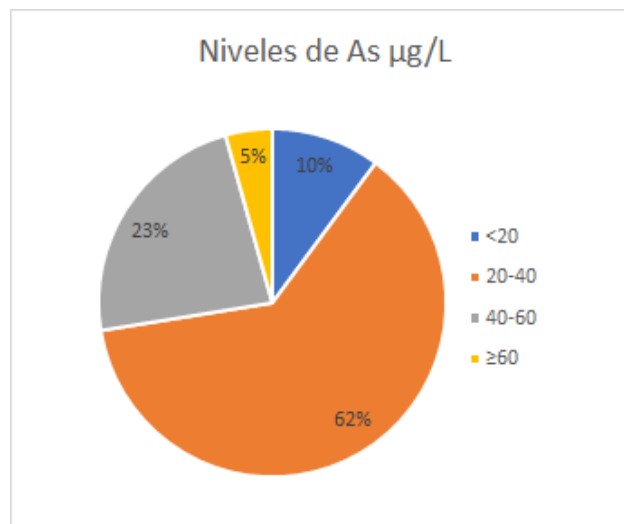


Figura 8 Niveles de As en orina expresado en $\mu\text{g/L}$ en el Grupo expuesto.

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 14 Concentración de arsénico por género y su división por límite de tolerancia biológica.

Concentración de As en orina por género en Molinos.	MASCULINO	FEMENINO
N	17	52

As ($\mu\text{g/g creat.}$)			
Media \pm desv. estándar		33,12 \pm 10,21	34,68 \pm 14,74
As ($\mu\text{g/L}$)			
Media \pm desv. Estándar		37,97 \pm 19,97	33,09 \pm 12,66
Concentración de As por género por el Límite de Tolerancia Biológica.			
As ($\mu\text{g/g creat.}$)			
N, %	< 25	4 (23,53)	15 (28,85)
	\geq 25	13 (76,47)	37 (71,15)
As ($\mu\text{g/L}$)			
N, %	< 20	2 (11,76)	5 (9,62)
	\geq 20	15 (88,24)	47 (90,38)

Fuente: Elaboración propia.

Los niveles de As en orina por género en la población expuesta de Molinos en el caso de As $\mu\text{g/g creatinina}$ es de 33,12 y 34,68 para hombres y mujeres respectivamente. La media de As $\mu\text{g/L}$, es de 37,97 y 33,09 en hombres y mujeres respectivamente. Desde el punto de corte del valor límite de tolerancia biológica para exposición ambiental, el 76,47 % de la población masculina y el 71,15 % de la femenina supera los 25 $\mu\text{g/g}$ de As en orina. El 88,24% de varones presenta niveles por encima de los 20 $\mu\text{g/L}$ de As en orina mientras que las mujeres el 90,38%.

Tabla 15 Prueba de Levene y T-student en concentración de arsénico por género del Grupo expuesto.

Igualdad de varianza.	Test de Levene		T-test de igualdad de Medias						
	F	Sig.	t	df	Sig. (2- tailed)	Dif. media	Error Est.	Interv. Confianza 95%	
								Inf.	Sup.
As (µg/g creat.)	3,659	,060	-,405	67	,687	-1,56	3,85	-9,25	6.13
As (µg/L)	3,794	,056	1,184	67	,241	4,88	4,12	-3,34	13.10

Fuente: Elaboración propia.

$P > 0,05$

Se presenta la homogeneidad de varianzas y la prueba T- de student, en ambas pruebas el p valor fue mayor a 0,05, por lo que se acepta que no hay diferencia en las varianzas y las medias de la concentración de As en hombres y mujeres de Molinos.

La figura 9 y 10 esquematiza la diferencia de medias y el error entre las concentraciones de As en µg/g creatinina y µg/L por género de la población de Molinos.

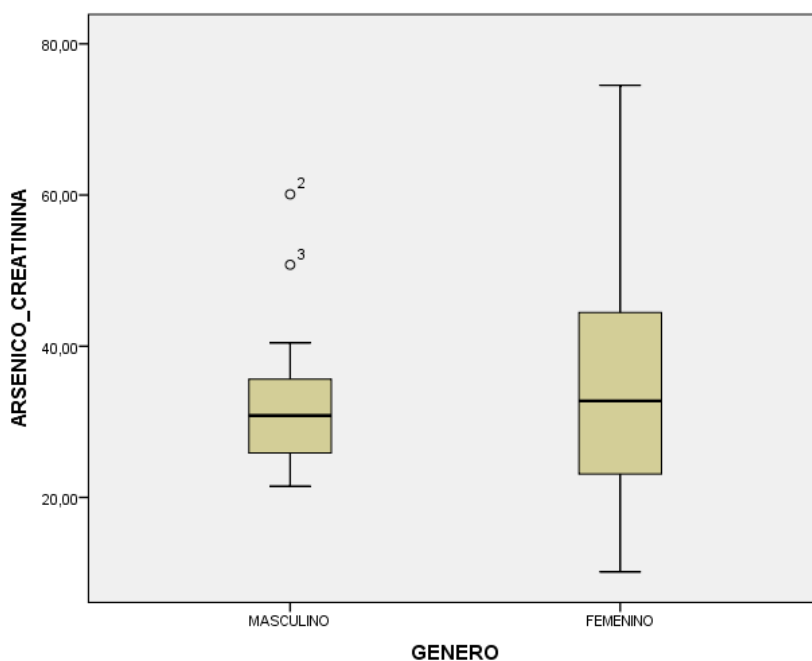


Figura 9 Diagrama de cajas para la diferencia de medias del grupo expuesto por género expresada en $\mu\text{g/g}$ creatinina.

Fuente: Elaboración propia.

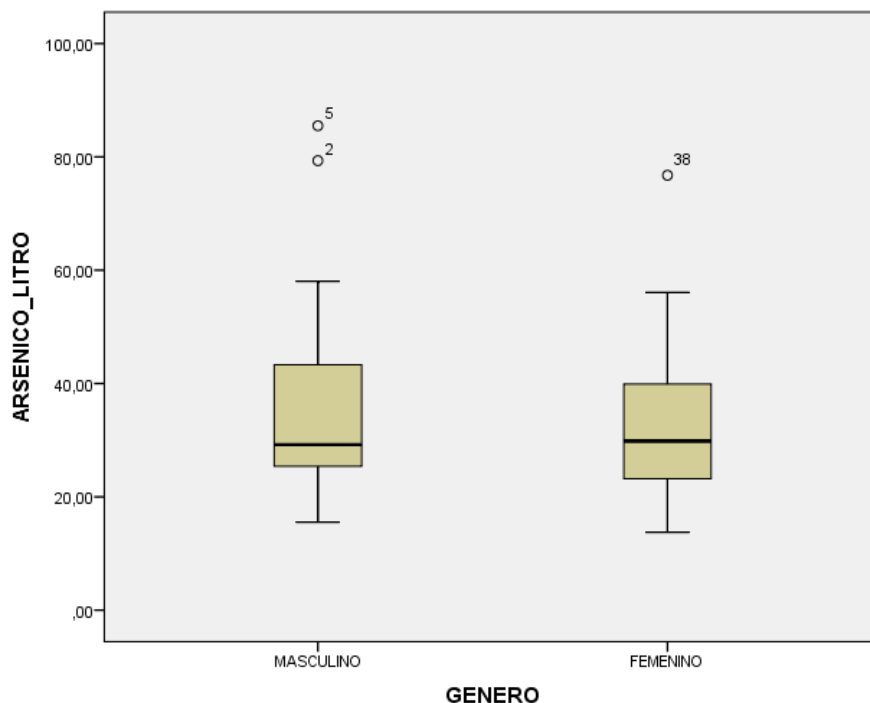


Figura 10 Diagrama de cajas para la diferencia de medias del grupo expuesto por género expresada en $\mu\text{g/L}$.

Fuente: Elaboración propia.

6.3 Biomarcadores de Estrés Oxidativo

En la Tabla 9, se presenta los resultados de los biomarcadores de estrés oxidativo, los niveles de MDA indican peroxidación lipídica, para el grupo expuesto el valor medio fue de $8,87 \mu\text{moles/L}$ y para el grupo control fue de $5,09 \mu\text{moles/L}$. Los niveles de PAOP indican oxidación de proteínas y para el grupo expuesto el valor medio fue de $101,43 \mu\text{mol/L}$ y para el grupo control fue de $60,75 \mu\text{mol/L}$.

Tabla 16 Marcadores de Estrés Oxidativo en Población expuesta y control.

Parámetros	Grupo	Grupo
	Control	expuesto

N	35	69
MDA (μ moles/L)		
Media \pm Des. Estándar	5,09 \pm 1,49	8,87 \pm 3,12
Mínimo	2,36	3,35
Máximo	8,1	22,85
PAOP (μ mol/L)		
Media \pm Des. Estándar	60,75 \pm 14,98	101,43 \pm 69,47
Mínimo	40,79	33,63
Máximo	109,59	355,65
GLUTATION TOTALES (mmol/L)		
Media \pm Des. Estándar	8,89 \pm 1,36	7,27 \pm 2,76
Mínimo	5,81	1,5
Máximo	11,85	12,75

Fuente: Elaboración propia.

*MDA expresado como TBARS

Además los niveles medios de Glutación en el grupo expuesto fueron de 7,27 mmol/L y para el grupo control de 8,89 mmol/L.

Se analizaron los resultados con la prueba T student para probar la igualdad de medias para las variables entre el grupo expuesto y el grupo control (Tabla 17). Podemos observar que existe diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,05$) para los niveles de MDA, PAOP y Glutación entre el grupo expuesto y control.

Tabla 17 Prueba de T-student, comparación de medias entre Grupo expuesto y control.

Parámetro	T	Significancia
Población N	66	31
MDA (μ moles/L suero)	8,35	0,00*
PAOP (μ mol/L)	4,66	0,00*
GSH (mmol/L plasma)	-3,26	0,00*

Fuente: Elaboración propia.

*p<0,05 para la prueba "t" de Student cuando se compara con el grupo expuesto,

En las figuras 11,12 y 13 se presentan los diagramas de caja para la diferencia de medias y error de las concentraciones de MDA, PAOP y Glutación entre el grupo expuesto y control.

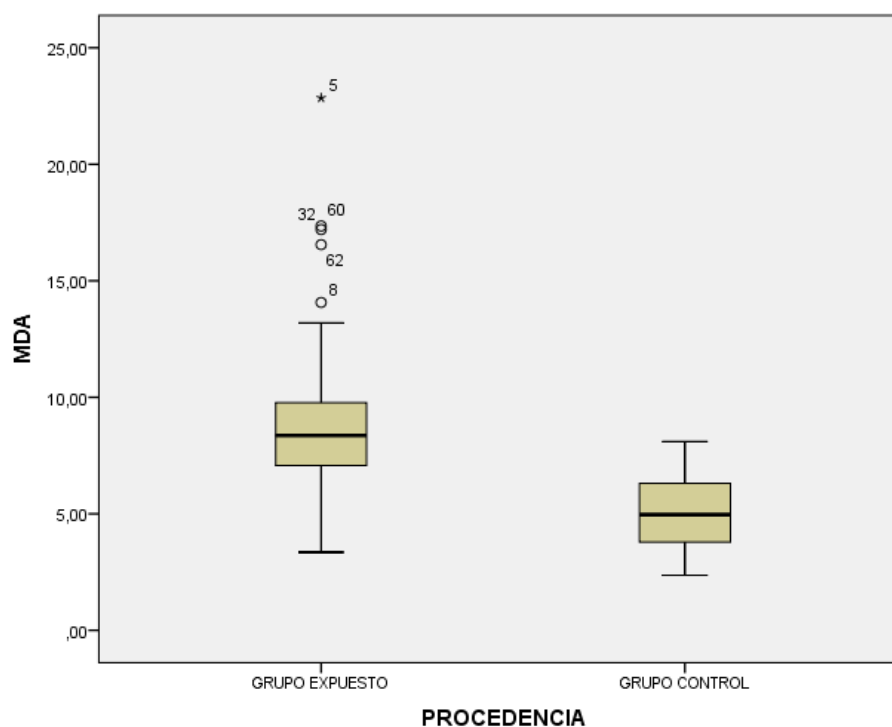


Figura 11 Diagrama de cajas para la diferencia de medias entre las concentraciones de MDA del Grupo control y expuesto.

Fuente: Elaboración propia.

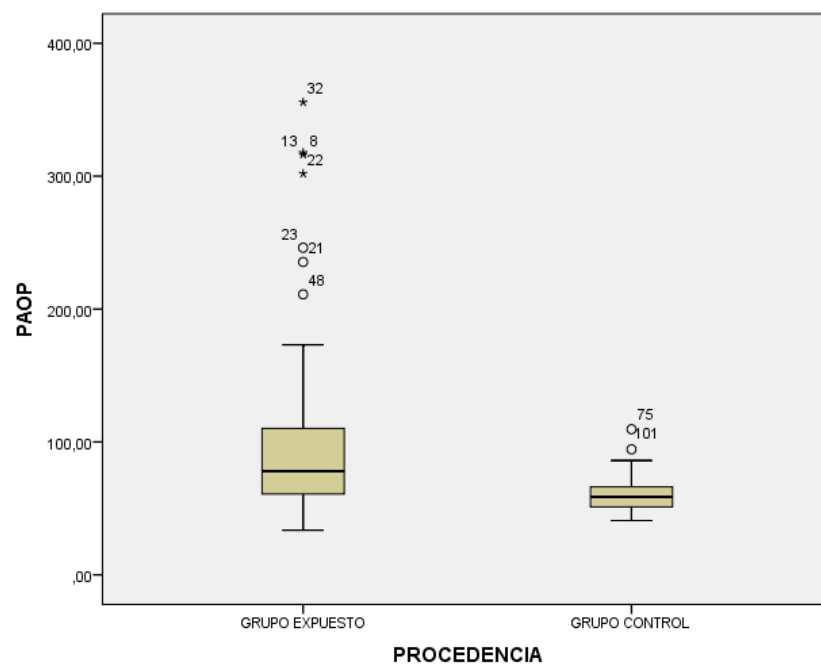


Figura 12 Diagrama de cajas para la diferencia de medias entre las concentraciones de PAOP en el grupo expuesto y control.

Fuente: Elaboración propia.

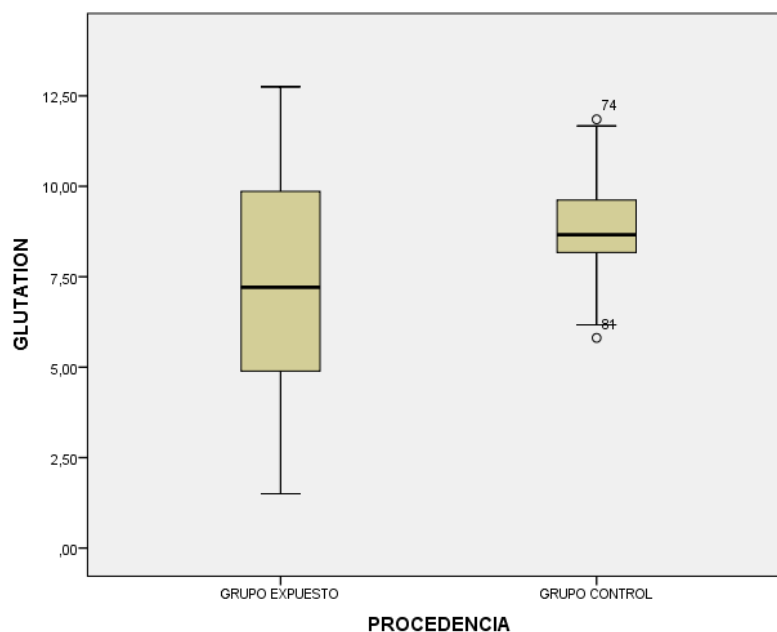


Figura 13 Diagrama de cajas para la diferencia de medias entre las concentraciones de glutatión en el Grupo control y expuesto.

Fuente: Elaboración propia.

6.4 Correlación entre la exposición al Arsénico y marcadores de estrés oxidativo

En la Tabla 18 se presenta los resultados del análisis de Pearson para demostrar la correlación entre la exposición al As expresado por niveles de As en orina y los biomarcadores de estrés oxidativo.

Tabla 18 Correlación de Pearson entre la exposición al arsénico y los biomarcadores de estrés oxidativo.

		MDA	PAOP	Glutación
As (µg/L)	Correlación de Pearson	,429	,415	-,369
	Sig. (2-tailed)	,000**	,000**	,000**

	N	104	104	104
	Correlación de Pearson	,481	,345	-,376
As	Sig. (2-tailed)	,000**	,000**	,000**
(µg/g creatinina)	N	104	104	104

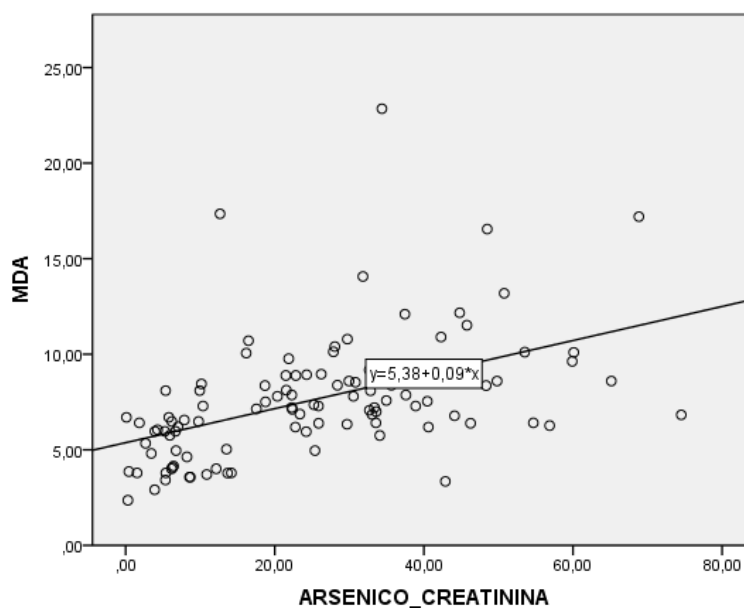
Fuente: Elaboración propia.

***p<0,05

De acuerdo a los resultados, la correlación encontrada entre la concentración de As y los marcadores de estrés oxidativo, se evidenció una relación moderada positiva con el MDA y PAOP con el As µg/L y una relación moderada positiva entre el MDA y As µg/g creatinina y relación baja positiva con el PAOP y baja negativa con el GSH para ambos.

En las figuras 14,15 y 16 se presentan los diagramas de dispersión para la correlación entre el As µg/g creatinina, µg/L y MDA, PAOP y Glutación.

La figura 14 muestra una correlación positiva y lineal entre la concentración de As µg /g creatinina, µg/L y la variable MDA



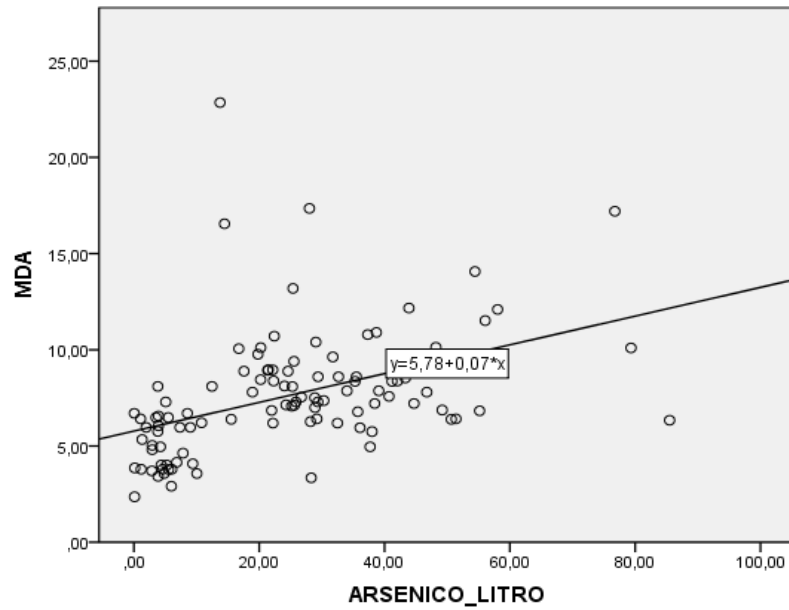
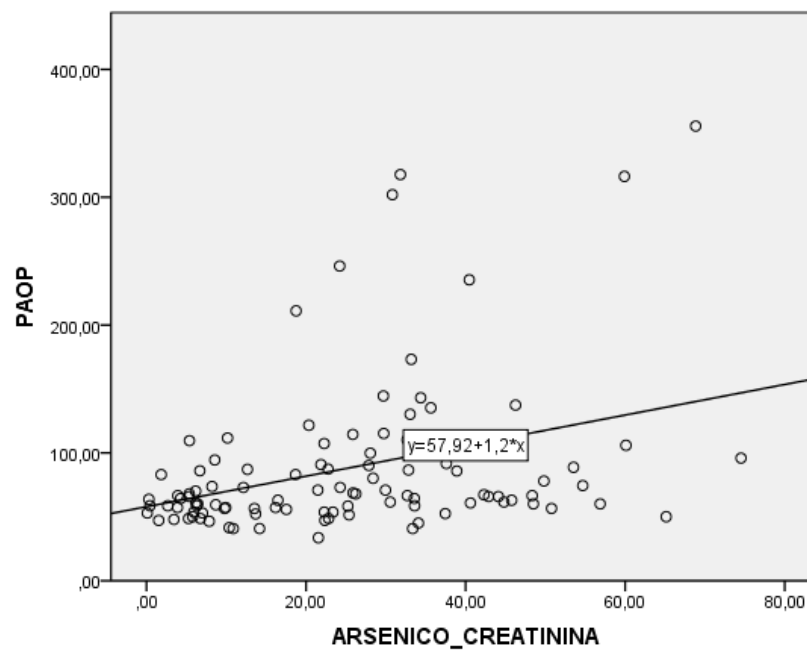


Figura 14 Diagrama de dispersión para la correlación entre la concentración de As en $\mu\text{g/g}$ creatinina, $\mu\text{g/L}$ y MDA.

Fuente: Elaboración propia.

La figura 15 muestra una correlación positiva y lineal entre la concentración de As $\mu\text{g/g}$ creatinina, $\mu\text{g/L}$ y la variable PAOP.



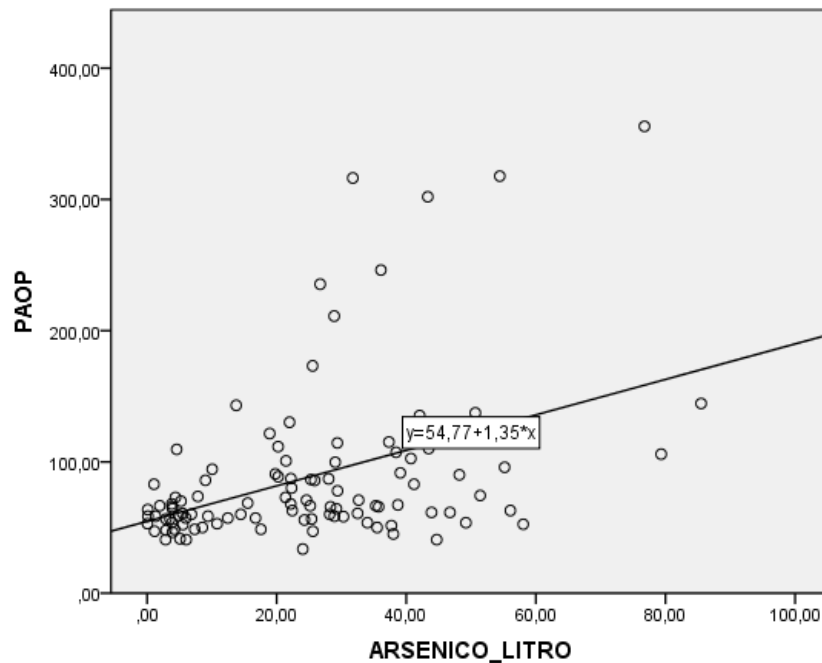
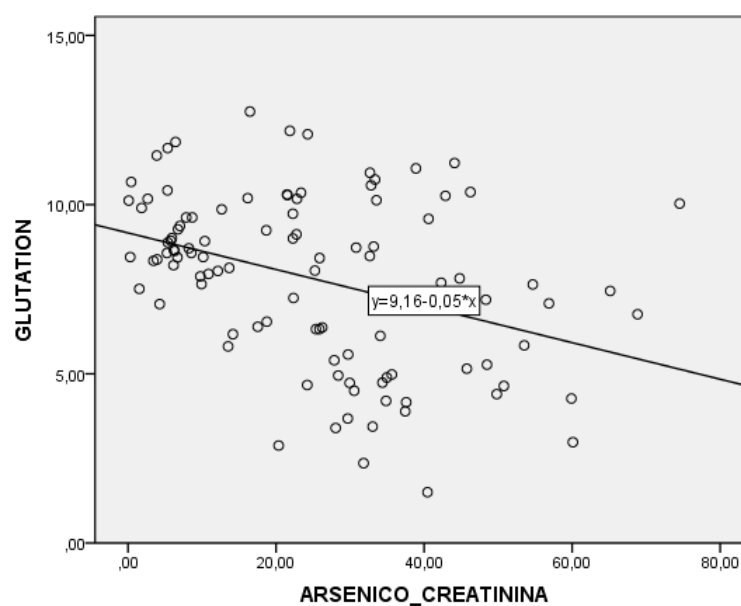


Figura 15 Diagrama de dispersión para la correlación entre la concentración de arsénico en $\mu\text{g/g}$ creatinina, $\mu\text{g/L}$ y PAOP.

Fuente: Elaboración propia.

La figura 16 muestra una correlación negativa y lineal entre la concentración de As $\mu\text{g/g}$ creatinina, $\mu\text{g/L}$ y la variable Glutación.



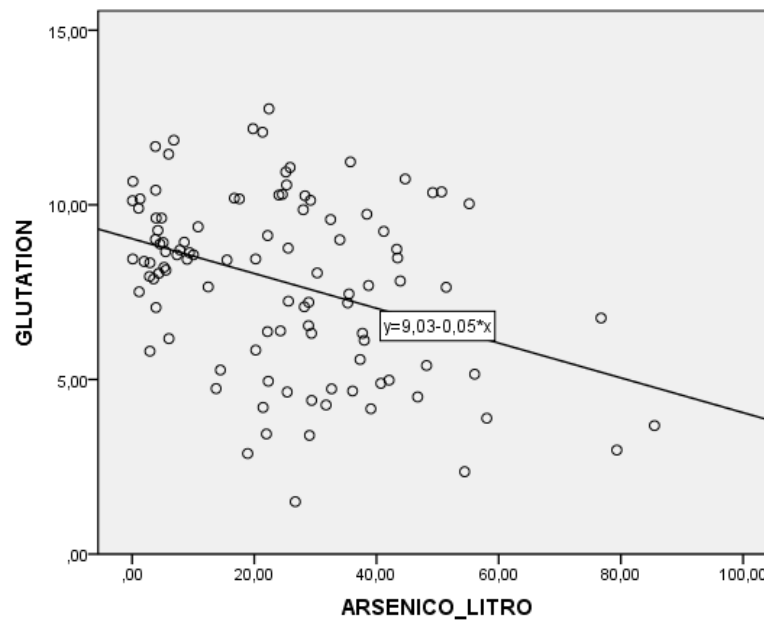


Figura 16 Diagrama de dispersión para la correlación entre la concentración de arsénico $\mu\text{g/g}$ creatinina, $\mu\text{g/L}$ y Glutación.

Fuente: Elaboración propia.

7. DISCUSIÓN

Las muestras de agua tomadas en el distrito de Molinos corresponden a 5 puntos de muestreo que incluye el recurso hídrico proveniente del manantial Punkumachay ubicado en el anexo de Quero que abastece de agua para consumo humano a los distritos de Jauja, Xauxa, y Yauyos ^{88,89}, la administración de este recurso hídrico le pertenece al ALA Mantaro (Administración local de agua Mantaro) de las cuales tiene fuentes de agua destinadas en su mayoría al uso poblacional ⁹⁰.

La concentración de As reportada para la presente investigación en el anexo de Quero fue de 53 µg/L, mientras que en las viviendas del Centro Poblado de Molinos el contenido de As en el agua de tuberías disminuyó ligeramente (44 µg/L), sin embargo las concentraciones de As en los 5 puntos muestreados presentan niveles de As que sobrepasan casi 5 veces el límite permisible que es de 0,01 mg/L (10 µg/L) según la OMS y el Reglamento de la Calidad del Agua para Consumo Humano (DS N° 031-2010-SA) ⁷⁵. Estos resultados confirman las concentraciones de As reportados por la DIRESA Junín en el año 2012 ⁹¹, a través de un reporte periodístico se dio a conocer que el 56% de los 800 mil pobladores de la región Junín se encontraba bebiendo agua no apta para el consumo humano con concentraciones de As de 57,7 µg/L. Por otro lado, el mismo año otro reporte periodístico dado por la Dirección General de Salud Ambiental (DIGESA) ⁹², reportan la presencia de 47,3 µg/L de As en el manantial Punkumachay en el anexo de Quero, distrito de Molinos, además indicaron que tomarían acciones correctivas. Según nuestros hallazgos en el 2018 las concentraciones de As en dicho reservorio siguen siendo las mismas, demostrando la exposición crónica de la población, esto se debe a que el problema de contaminación de las aguas del distrito de Molinos es de origen natural como lo indican en el Plan Regional de Saneamiento Junín 2017-2021.⁹⁰

Por otro lado, la concentración de As en Apata no superó los 5 µg/L en el agua potable, encontrándose dentro de los valores aceptados, y esto se debe a que la fuente que abastece de agua al distrito de Apata es diferente a la fuente que abastece al distrito de Molinos, esta proviene de la Sub cuenca hídrica del río Seco.⁹⁰

La contaminación de las aguas subterráneas y superficiales del Perú se conoce desde 1970 ⁹, y se encuentra asociado principalmente a contaminación geogénica, en el 2014, George *et al.*², realiza un muestreo de aguas superficiales y subterráneas en 151 puntos en el Perú, encontrando niveles de As que sobrepasan la norma establecida.

La concentración media de As en el agua de Molinos (47 µg/L) a pesar de sobrepasar casi 5 veces a la norma establecida es considerada como concentración moderada (25 – 100 µg/L) ⁹³. Concentraciones más bajas (30 µg/L) han sido reportadas al noroeste de Perú en el 2016, en el agua potable en un pozo de Municipio de Mórrope, y en el 2018 se reportaron concentraciones de As hasta de 100 µg/L en 14 localidades del mismo distrito ⁹⁴. Otras investigaciones realizadas en zonas alto andinas del Perú corresponden a la de George *et al.* ², quienes encontraron como concentraciones más elevadas de As en su estudio a las de los pozos en Juliaca (1,2–193,1 µg/L), y Caracoto (31,9–113,1 µg/L). Concentraciones más altas (100 - 1000 µg/L) también han sido reportadas en Tacna, por estar asociada a zonas volcánicas, según el informe de la Mesa de Concertación Para la Lucha Contra la Pobreza 2017 ⁹⁵.

La población que accedió a participar en el presente estudio fueron adultos de ambos sexos, conformado por 69 pobladores del Centro poblado de Molinos que es considerada como población expuesta y 35 del Centro poblado de Apatá considerada como Grupo control. Casi el 90 % de los participantes declararon haber nacido en los lugares de estudio, con lo cual se tiene en el estudio un alto porcentaje de población expuesta de manera crónica al As en el agua para el caso de Molinos. Según la Tabla 9, la población mayoritaria estuvo conformada por mujeres en ambos poblados y la edad promedio fue similar en ambos grupos 49 años para el grupo control y 47 años para el grupo expuesto y el grupo entre 18 y 40 años fue de mayor participación. La actividad primordial entre los participantes varones del grupo expuesto fue la de agricultor y ganadero, en tanto en Apatá fue la de agricultor y otras actividades y en las participantes mujeres para ambos grupos la actividad primordial fue la de ama de casa (Tabla 10).

La varianza entre las características demográficas del grupo expuesto y control fue demostrada por la prueba de homogeneidad de varianzas según Test de Levene (Tabla 11) para las variables años de residencia, edad, sexo y consumo de cigarro,

el valor p resultó superior a 0,05 para todas las variables por lo que se acepta la hipótesis nula que indica la homogeneidad de varianzas, indicando una distribución homogénea entre el grupo expuesto y control. Este análisis fue importante a fin de demostrar que las características demográficas no influyen en el estudio, además ambos centros poblados se encuentran en condiciones similares de altitud (Molinos con 34559 msnm y Apata 3359 msnm), condiciones climatológicas y socioeconómicas, de este modo la única variable que podría influenciar es la exposición al As en el agua de consumo.

Por otro lado, también se encuestó a los participantes sobre los hábitos nocivos acerca de fumar o beber alcohol (Tabla 9) y según los resultados el 90 % de los participantes no fuman y si lo hacen es de manera esporádica, lo mismo sucede con el consumo de bebidas alcohólicas en ambos grupos, lo cual es importante conocer para los objetivos de este estudio, ya que el consumo de alcohol y cigarro pueden alterar los marcadores de estrés oxidativo.

La exposición de la población al As fue evaluada a través de la determinación de As total en orina, que es considerado como biomarcador de exposición aguda y su presencia indica que el arsénico (AsI y sus metabolitos) se encuentra biodisponible y el sujeto se ha expuesto de manera reciente. La concentración media de As en orina del presente estudio fue de 34,30 µg/L y 34 µg/ g creatinina, ambas medias se encuentran por encima del valor límite de exposición ambiental que es de 20 µg/L y 25 µg/ g creatinina ⁷⁷, por lo tanto, se demuestra la exposición de la población de Molinos al As en el agua de consumo.

En la presente investigación se vio por conveniente usar las dos formas de expresión para la concentración de As total en orina (µg/L y µg/ g creatinina), debido a la controversia de estudios recientes que reportan que los ajustes por creatinina sesga los resultados ⁹⁶⁻⁹⁸ si no se consideran algunos parámetros como la edad, género entre otros. Al respecto Hays *et al.* ⁹⁷ evaluaron la velocidad de flujo urinario como métrica alternativa para la dilución de orina, fundamentado en que la creatinina es empleada para ajustar las variaciones de dilución de la orina relacionada con la hidratación además se ha demostrado que existe correlación entre la excreción de creatinina con la edad, género, IMC, dieta y enfermedad renal

⁹⁸. La expresión de orina total en $\mu\text{g/L}$, ha sido reportada por Hinwood *et al.* ⁹⁹ quienes concluyen que no es necesario hacer ajustes de orina puntual ya que sus resultados evidencian que no existe diferencia significativa con la orina de 24 horas.

La distribución del grupo expuesto según el límite de exposición ambiental (Figuras 14 y 15), muestra que en los resultados corregidos por creatinina el 28 % de la población se encuentra por debajo del límite permisible, porcentaje diferente se observa cuando se expresa en $\mu\text{g/L}$ donde el 10% se encuentra por debajo del límite de exposición. Estos resultados podrían explicarse debido a la variación de excreción interindividual de creatinina que está influenciada por la edad, se ha demostrado que la tasa de excreción de creatinina en jóvenes, adultos y adultos mayores varía por Kg de peso corporal, además de estar influenciada por el género ⁹⁶⁻⁹⁸, lo cual guarda relación con el presente estudio, ya que el grupo expuesto estuvo conformado por un grupo etario diverso que abarca desde los 18 años a mayores de 65 años además el 75,4 % de la población estuvo conformada por mujeres (Tabla 9).

Son pocas las investigaciones en Perú que relacionan el consumo de agua y niveles de As en la población. Al respecto en el 2017 Ale-Mauricio *et al.* ¹⁰⁰, condujeron un estudio en la Provincia de Candarave en los distritos de Cairani y Camilaca con concentraciones de As en el agua potable de 680 $\mu\text{g/L}$ y 2 $\mu\text{g/L}$ respectivamente, sus resultados demostraron que el 100 % de la población de Cairani presentaron valores tóxicos de As en orina con una media de 601,6 $\mu\text{g/g}$ creatinina y que el 80 % de la población de Camilaca presentaron niveles tóxicos de As con una media de 30,3 $\mu\text{g/g}$ creatinina a pesar de que los niveles de As en agua se encontraban por debajo del límite permisible. Lo que no coincide con los resultados del presente estudio ya que en la población considerada como control la concentración de As en agua fue de 5 $\mu\text{g/L}$ y la media de As en orina en este grupo fue de 4,88 $\mu\text{g/L}$ y 6,53 $\mu\text{g/g}$ creatinina, se puede observar relación entre el nivel de As en agua y orina como se ha demostrado en la mayoría de las investigaciones que demostraron correlación alta y positiva entre los niveles de As en orina y agua.

Otro estudio similar en la misma provincia, en el distrito de Candarave se realizó en el 2016 ¹⁰, en una población de 140 adultos en la que el valor promedio de As en orina resultó 87,13 $\mu\text{g/g}$ creatinina con un 92 % de la población que superó el límite

de exposición, la población mayoritaria en este grupo estuvo constituida por un 85% de adultos y 75 % del género masculino, cabe resaltar que en este estudio no hacen la medición de As en el agua potable, y asumen un valor de 200 µg/L, que tampoco guarda relación con los niveles de As en orina que reportan.

El papel de la peroxidación lipídica inducida por As ha sido ampliamente estudiado en modelos animales demostrando el aumento de lípidos plasmáticos derivados de la peroxidación lipídica ^{65, 70,71}. El mecanismo ha sido descrito por Flora ⁴; los EROs inducidos por As atacan directamente el átomo de hidrógeno de un grupo metileno adyacente a un átomo de carbono insaturado, iniciando la peroxidación lipídica seguida de la formación de lipoperóxidos y formar finalmente productos finales de la peroxidación que son MDA, HNE y 2-propenal.

Ramos *et al.*⁷⁰, demostraron la inducción de peroxidación lipídica en ratas hembras tratadas con diferentes dosis de arsina y dimetil arsina, para lo cual determinaron las concentraciones de MDA como TBARS en el hígado, riñón y corazón, demostrando un efecto mayor a concentraciones mayores de As 18,2 mg /kg. Por otro lado Wang *et al.*⁷¹, demostró incremento significativo de MDA (TBARS) en cerdos en crecimientos tratados con diferentes dosis de As inorgánico en forma de As₂O₃.

Estudios en poblaciones humanas fueron reportadas por Pi *et al.*¹⁴ Quienes estudiaron una población china expuesta durante 18 años a As en el agua de consumo (410 µg/L) y una población control (20 µg/L), reportaron un incremento significativo de MDA en suero en el grupo expuesto; al igual que Lin *et al.* ¹⁰¹ midieron el incremento de MDA en plasma en pacientes con la enfermedad del Blackfoot en China, encontrando la relación proporcional entre concentración de As en orina y MDA en plasma.

Las proteínas celulares también son blancos para los EROs, pueden oxidarse por acción de estos o por reacción con metales, como productos terminales de esta oxidación se generan grupos carbonilo compuestos por aldehídos y cetonas que pueden ser cuantificados y usados como biomarcadores de estrés oxidativo. Además también se emplean como marcadores de estrés oxidativo a la

cuantificación espectrofotométrica de los productos avanzados de oxidación de proteínas (PAOP) propuesta por Witko- Sarsat *et al.*⁷²

El valor medio de PAOP encontrada en el grupo expuesto y control fue de 101,43 $\mu\text{mol/L}$ y 60,75 $\mu\text{mol/L}$ respectivamente. Se demostró una diferencia estadísticamente significativa entre los grupos con un valor $p = 0.00$, representados en las Tablas 16 y 17, por lo tanto existe oxidación de proteínas por el estrés oxidativo en la población expuesta al As.

La oxidación de proteínas es un marcador poco utilizado en la mayoría de investigaciones de estrés oxidativo ya que emplean principalmente la determinación de MDA y las actividades de enzimas antioxidantes. Al respecto Flora ⁴ en una revisión que hace sobre la inducción de estrés oxidativo por As presenta 2 estudios ^{102,103} en los cuales se emplearon como marcador de estrés oxidativo a la cuantificación de grupos carbonilos, demostrando correlación positiva y significativa entre la exposición al As y la oxidación de proteínas, que también ha sido demostrado en el presente estudio, como una correlación media y significativa entre el As en orina ($\mu\text{g/L}$) y la concentración de PAOP (Tabla 18), estudios similares empleando el mismo marcador no se han reportado.

El valor medio de glutatión cuantificado como tioles totales en el plasma fue mayor para el grupo control con 8,89 mmol/L mientras que para el grupo expuesto fue de 7,27 mmol/L (Tabla 16), demostrando disminución de glutatión en el grupo expuesto además se demostró la diferencia estadísticamente significativa entre ambos grupos (Tabla 17).

El glutatión (L-y-glutamyl-L-cisteinylglycine) forma parte del sistema antioxidante endógeno de la célula, participa de manera directa o indirecta como parte del sistema antioxidante de la Glutatión peroxidasa reduciendo al peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y lipoperóxidos (L-OOH), además el GSH interviene en la recuperación de las vitaminas C y E y en la detoxificación de compuestos xenobióticos, en el balance Redox, por lo tanto su disminución o depleción está relacionada con el estrés oxidativo ¹⁴.

Se ha demostrado que la exposición al arsénico se encuentra relacionado con la disminución de los niveles de glutatión en estudios animales y en poblaciones humanas. En el estudio realizado por Wang *et al.*⁷¹, en cerdos expuestos a

concentraciones relativamente altas de AsI demostraron depleción significativa de GSH en el suero, hígado y riñón. Resultados similares han sido reportados por Ramos *et al.*⁷⁰ en ratas hembras expuestas a elevadas dosis de AsI, demostrando depleción de GSH no solo en sangre sino también en hígado, riñón y corazón y que la administración de N-acetil cisteína ayuda a recuperar los niveles de GSH y MDA en ratas tratadas con As.

Kalantari *et al.*⁶⁵, investigaron en un modelo experimental empleando ratones la acción hepatotóxica del AsI solo y asociado a una dieta alta en grasa a través de marcadores de estrés oxidativo siguiendo cambios en los genes de apoptosis. Demostraron que se produjo peroxidación lipídica y disminución de las actividades antioxidantes de SOD, CAT y GSH en un grupo control cuando el AsI estuvo asociado a la dieta alta en grasa.

Pi *et al.*¹⁴ al estudiar en una población de Mongolia la asociación de la exposición al AsI y el estrés oxidativo, reportó correlación significativa e inversa de GSH en sangre total con el As total en orina y sangre, además de una fuerte correlación inversa entre los niveles de GSH y lipoperoxidos, sugiriendo que los bajos niveles de GSH como posible causa de la lipoperoxidación, además los autores proponen dos mecanismos para explicar la depleción de GSH, el primero por agotamiento de Glutatión en la reducción de As (V) a As (III) en la sangre y por el proceso de la primera metilación de As que se lleva a cabo en el hígado.

La depleción del GSH como mecanismo de toxicidad del AsI ha sido ampliamente descrita por Flora⁴, presentando como uno de los mecanismos más aceptado al proceso de reducción y oxidación del As durante la metilación por la Arsénico 3 metil transferasa, en este proceso el AsI se conjuga con el glutatión, por lo tanto a mayor exposición al AsI o una exposición crónica podría agotar las reservas de glutatión, por esta razón el autor propone al glutatión como biomarcador de toxicidad del AsI.

Los análisis de correlación entre la exposición al AsI expresado como niveles de AsT en orina y los marcadores de estrés oxidativo demuestran que existe correlación directa altamente significativa entre los niveles de MDA y PAOP y una correlación inversa significativa con los niveles de glutatión, la correlación nos indica la causalidad entre la exposición al As y el efecto medido por la alteración de

los marcadores de estrés oxidativo , por lo tanto a medida que se incrementan las concentraciones de As en orina también se incrementan los niveles de MDA y PAOP, lo contrario ocurre con el Glutathión, resultados similares han sido demostrados en estudios en animales y poblaciones expuestas . A la luz de nuestros resultados queda demostrado que la exposición a bajas concentraciones de As en la población de Molinos produce estrés oxidativo.

8. CONCLUSIONES

1. Se demostró la exposición al As en la población de Molinos a través del consumo de agua con un valor medio de $47 \mu\text{g/L} \pm 5,2$ de As en el agua y con niveles de AsT en orina de $34,298 \pm 14,79 \mu\text{g/L}$ y $34,296 \pm 13,71 \mu\text{g/g}$ creatinina.
2. Los biomarcadores de estrés oxidativo en los pobladores expuestos al As fueron significativamente diferentes al grupo control, siendo los niveles séricos de la población expuesta de TBARS y PAOP ($8,87 \pm 3,12 \mu\text{moles/L}$ y $101,43 \pm 69,47 \mu\text{mol/L}$) significativamente mayores al grupo control ($5,09 \pm 1,49 \mu\text{moles/L}$ y $60,75 \pm 14,90 \mu\text{mol/L}$) y los niveles de Glutación ($7,27 \pm 2,76 \text{ mmol/L}$) significativamente menores al grupo control ($8,89 \pm 1,36 \text{ mmol/L}$), indicando generación de estrés oxidativo en la población expuesta.
3. Se encontró una correlación moderada positiva entre los niveles de AsT en orina y los marcadores PAOP y MDA ($0,429$ y $0,415$; $p < 0,05$) y una correlación moderada negativa entre los niveles de AsT y el glutación ($-0,376$; $p < 0,05$), indicando estrés oxidativo asociada a la exposición de As en el agua de consumo.

9. RECOMENDACIONES

La contaminación por As no es un tema ajeno a nuestra realidad por lo que se debería realizar monitoreos a las poblaciones expuestas mediante el agua de consumo, como en el caso de Molinos.

No sólo debería considerarse la medición de As en orina como marcador de exposición, sino también ver por los marcadores de estrés oxidativo y poder prevenir ciertas enfermedades derivadas de la exposición al As.

Realizar estudios de susceptibilidad en las poblaciones afectadas y verificar si estas han generado cierta resistencia o susceptibilidad al daño generado por el As.

10. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. World Health Organization. Arsenic [Página principal de internet], Ginebra: World Health Organization; 2018 [citado 8 de julio 2020]. Disponible en: <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/arsenic>
2. George C, Sima L, Arias M, Mihalic J, Cabrera L, Danz D *et al.* Arsenic exposure in drinking water: an unrecognized health threat in Peru. Bulletin of the World Health Organization [Internet]. 2014 [citado 8 de julio 2020]; 92(8):565-572. Disponible en: <https://www.who.int/bulletin/volumes/92/8/13-128496/en/>
3. Lantz R, Hays A. Role of Oxidative Stress in Arsenic-Induced Toxicity. Drug Metab Rev. [Internet]. 2006 [citado 8 de julio 2020]; 38(4):791-804. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17145702/>
4. Flora S. Arsenic-induced oxidative stress and its reversibility. Free Radic Biol Med. [Internet]. 2011 [citado 8 de julio 2020]; 51(2):257-281. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21554949/>
5. Carabantes Alexandra Galetovic, Fernicola Nilda A.G.G. de. Arsénico en el agua de bebida: un problema de salud pública. Rev Bras Cienc Farm. [Internet]. 2003 [citado 8 julio 2020] ; 39(4): 365-372. Disponible en: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-93322003000400003&lng=en. <https://doi.org/10.1590/S1516-93322003000400003>.
6. Kaur T, Singh A, Goel R. Mechanisms pertaining to arsenic toxicity. Toxicol Int. [Internet]. 2011 [citado 8 julio 2020]; 18(2):87. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3183630/>
7. Castro de Esparza M. The presence of arsenic in drinking water in Latin America and its effect on public health. In: Bundschuh J, Armienta M, Birkle P, Bhattacharya P, Matschullat J, Mukherjee A, ed. by. Natural Arsenic in Groundwaters of Latin America [Internet]. 1st ed. Great Britain: CRC Press; 2008 [citado 10 julio 2020]. p. 17-26. Disponible en:

https://books.google.com.pe/books?id=dX_XNF3b6FAC&printsec=frontcover&hl=es&source=gbg_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false

8. Buchet J, Lison D. Clues and uncertainties in the risk assessment of arsenic in drinking water. *Food Chem Toxicol.* [Internet]. 2000 [citado 10 julio 2020]; 38:S81-S85. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10717375/>
9. Bundschuh J, Pérez Carrera A, Litter M. Distribución del arsénico en las regiones Ibérica e Iberoamericana. 1st ed. Argentina: CYTED; 2008. [citado 10 julio 2020]. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/258702251_Distribucion_del_arsenico_en_las_regiones_Iberica_e_Iberoamericana
10. Ticona W. Niveles de Arsénico en orina de pobladores adultos del distrito de Candarave en Diciembre de 2016. [Tesis de Licenciatura]. Tacna: Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann; 2018. 98 p. [citado 10 julio 2020]. Disponible en: [http://repositorio.unjbg.edu.pe/handle/UNJBG/3278#:~:text=Conclusiones%3A%20el%20nivel%20promedio%20de,\(20%20%CE%BCg%2Fg\).](http://repositorio.unjbg.edu.pe/handle/UNJBG/3278#:~:text=Conclusiones%3A%20el%20nivel%20promedio%20de,(20%20%CE%BCg%2Fg).)
11. Ng J, Wang J, Shraim A. A global health problem caused by arsenic from natural sources. *Chemosphere* [Internet]. 2003 [citado 10 julio 2020]; 52(9):1353-1359. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0045653503004703>
12. Kuo C, Moon K, Wang S, Silbergeld E, Navas-Acien A. The Association of Arsenic Metabolism with Cancer, Cardiovascular Disease, and Diabetes: A Systematic Review of the Epidemiological Evidence. *Environ Health Persp.* [Internet]. 2017; [citado 10 julio 2020]; 125(8):087001. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28796632/>
13. García-Montalvo E, Valenzuela O, Sánchez-Peña L, Albores A, Del Razo L. Dose-dependent urinary phenotype of inorganic arsenic methylation in mice with a focus on trivalent methylated metabolites. *Toxicol Mech Methods*

- [Internet]. 2011 [citado 10 julio 2020]; 21(9):649-655. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22003923/>
14. Pi J, Yamauchi H, Kumagai Y, Sun G, Yoshida T, Aikawa H *et al.* Evidence for induction of oxidative stress caused by chronic exposure of Chinese residents to arsenic contained in drinking water. *Environ Health Persp.* [Internet]. 2002 [citado 10 julio 2020]; 110(4):331-336. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1240794/>
15. Wu M, Chiou H, Wang T, Hsueh Y, Wang I, Chen C *et al.* Association of blood arsenic levels with increased reactive oxidants and decreased antioxidant capacity in a human population of northeastern Taiwan. *Environ Health Persp.* [Internet]. 2001 [citado 10 julio 2020]; 109(10):1011-1017. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11675266/>
16. IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Arsenic and arsenic compounds. En: *Arsenic, Metals, Fibres and Dusts* [Internet]. 100. ^a ed. Lyon: International Agency for Research on Cancer; 2012 [citado 11 julio 2020]. pp. 41–85. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK304375/>
17. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. ATSDR - Toxicological Profile: Arsenic [Internet]. *Atsdr.cdc.gov*. 2007 [citado 11 julio 2020]. Disponible en: <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp.asp?id=22&tid=3>
18. Gardner S. Fate, transport, and bioavailability of arsenic in manured and contaminated soils of Delaware [Internet]. Delaware: Faculty of the University of Delaware; 2009 [citado 11 julio 2020]. Disponible en: <https://udspace.udel.edu/handle/19716/5483>
19. Distribution of Arsenic in the Environment. En: *Arsenic: Medical and Biologic Effects of Environmental Pollutants* [Internet]. 1.^a ed. Washington (DC): National Academies Press (US); 1977 [citado 11 julio 2020]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK231016/>

20. Shrivastava A, Ghosh D, Dash A, Bose S. Arsenic Contamination in Soil and Sediment in India: Sources, Effects, and Remediation. *Curr Pollut Rep.* [Internet]. 2015 [citado 11 julio 2020]; 1(1):35-46. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s40726-015-0004-2>
21. Ratnaike R. Acute and chronic arsenic toxicity. *Postgrad Med J.* [Internet]. 2003 [citado 11 julio 2020]; 79(933):391-396. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12897217>
22. Gomez A, Howe P, Ughes M, Kenyon E, Moore M. World Health Organization. Environmental Health Criteria 224: Arsenic and Arsenic Compounds [Internet]. Who.int. 2001 [citado 11 julio 2020]. Disponible en: https://www.who.int/ipcs/publications/ehc/ehc_224/en/
23. Tapia J, Murray J, Ormachea M, Tirado N, Nordstrom D. Origin, distribution, and geochemistry of arsenic in the Altiplano-Puna plateau of Argentina, Bolivia, Chile, and Perú [Internet]. *Sci Total Environ.* 2019 [citado 11 julio 2020]; 678:309-325. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0048969719316043>
24. Hughes M, Beck B, Chen Y, Lewis A, Thomas D. Arsenic Exposure and Toxicology: A Historical Perspective. *Toxicol Sci.* [Internet]. 2011 [citado 11 julio 2020]; 123(2):305-332. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21750349/>
25. Alimoghaddam K. Arsenic Trioxide and Acute Promyelocytic Leukemia: A Drug for All Stages of Disease. *Clinical Leukemia* [Internet]. 2008 [citado 11 julio 2020]; 2(2):107-112. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1931692512600515>
26. Shen Z, Chen G, Ni J, Li X, Xiong S, Qiu Q *et al.* Use of Arsenic Trioxide (As₂O₃) in the Treatment of Acute Promyelocytic Leukemia (APL): II. Clinical Efficacy and Pharmacokinetics in Relapsed Patients. *Blood* [Internet]. 1997

- [citado 11 julio 2020]; 89(9):3354-3360. Disponible en:
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9129042/>
27. Kuriyama K. Arsenic Trioxide Newly Joins Treatment Strategies for Acute Promyelocytic Leukemia. *Intern Med.* [Internet]. 2001 [citado 12 julio 2020]; 40(12):1165-1165. Disponible en:
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11813833/>
28. Asou N. Arsenic Trioxide in the Treatment of Relapsed and Refractory Acute Promyelocytic Leukemia. *Intern Med.* [Internet]. 2005 [citado 12 julio 2020]; 44(8):775-776. Disponible en:
https://www.jstage.jst.go.jp/article/internalmedicine/44/8/44_8_775/_article/-char/ja/
29. Vermeulen M, Janssens K, Sanyova J, Rahemi V, McGlinchey C, De Wael K. Assessing the stability of arsenic sulfide pigments and influence of the binding media on their degradation by means of spectroscopic and electrochemical techniques. *Microchem J.* [Internet]. 2018 [citado 12 julio 2020]; 138:82-91. Disponible en:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0026265X17305696>
30. Cullen W. The toxicity of trimethylarsine: an urban myth. *J Environ Monit.* [Internet]. 2005 [citado 12 julio 2020]; 7(1):11. Disponible en:
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15693178/>
31. Bencko V, Yan Li Foong F. The history of arsenical pesticides and health risks related to the use of Agent Blue. *Ann Agric Environ Med.* [Internet]. 2017 [citado 12 julio 2020]; 24(2):312-316. Disponible en:
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28664715/>
32. Radcliffe E, Lagnaoui A. Insect Pests in Potato. *Potato Biology and Biotechnology* [Internet]. 2007 [citado 12 julio 2020]:543-567. Disponible en:
https://www.researchgate.net/publication/279426967_Insect_Pests_in_Potato

33. United States Environmental Protection Agency. Monosodium Methanearsonate (MSMA), an Organic Arsenical. United States of America: EPA [Internet]; 2013. [citado 13 julio 2020]. Disponible en: <https://www.epa.gov/ingredients-used-pesticide-products/monosodium-methanearsonate-msma-organic-arsenical>
34. Ramírez A. Exposición ocupacional y ambiental al arsénico. Actualización bibliográfica para investigación científica. An Fac med. [Internet]. 2013 [citado 13 julio 2020]; 74(3):237. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-55832013000300014
35. Kenyon E, Del Razo L, Hughes M. Tissue Distribution and Urinary Excretion of Inorganic Arsenic and Its Methylated Metabolites in Mice Following Acute Oral Administration of Arsenate. Toxicol Sci. [Internet]. 2005 [citado 13 julio 2020]; 85(1):468-475. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15703264/>
36. Rehman K, Naranmandura H. Arsenic metabolism and thioarsenicals. Metallomics [Internet]. 2012 [citado 13 julio 2020]; 4(9):881. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22358131/>
37. National Research Council (US) Subcommittee on Arsenic in Drinking Water. Arsenic in Drinking Water. Washington (DC): National Academies Press (US); 1999. 5, Disposition of Inorganic Arsenic [citado 13 julio 2020]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK230892/>
38. Pomroy C, Charbonneau S, McCullough R, Tam G. Human retention studies with ⁷⁴As. Toxicol Appl Pharmacol. [Internet]. 1980 [citado 13 julio 2020]; 53(3):550-556. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0041008X80903683>

39. Rosen B. Biochemistry of arsenic detoxification. FEBS Letters [Internet]. 2002 [citado 13 julio 2020]; 529(1):86-92. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12354618/>
40. Rathor R. Arsenic Toxicity: Biochemical Effects, Mechanism of Action and Strategies for the Prevention and Treatment by Chelating Agents and Herbal Extracts [Internet]. New Delhi: IK International Publishing House Pvt. 2010 [citado 13 julio 2020]. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/312032003_Arsenic_Toxicity_Biochemical_Effects_Mechanism_of_Action_and_Strategies_for_the_Prevention_and_Treatment_by_Chelating_Agents_and_Herbal_Extracts
41. Pham-Huy LA, He H, Pham-Huy C. Free radicals, antioxidants in disease and health. Int J Biomed Sci. [Internet] 2008 [citado 13 julio 2020];4(2):89-96. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23675073>
42. Burton G, Jauniaux E. Oxidative stress. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol. [Internet]. 2011 [citado 13 julio 2020]; 25(3):287-299. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3101336/>
43. Venereo Gutiérrez Justo R. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. Rev Cub Med Mil [Internet]. 2002 [citado 13 julio 2020]; 31(2): 126-133. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0138-65572002000200009&lng=es.
44. Murphy M. How mitochondria produce reactive oxygen species. Biochem J. [Internet]. 2008 [citado 17 julio 2020]; 417(1):1-13. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19061483/>
45. Ayala A, Muñoz M, Argüelles S. Lipid Peroxidation: Production, Metabolism, and Signaling Mechanisms of Malondialdehyde and 4-Hydroxy-2-Nonenal. Oxid Med Cell Longev. [Internet]. 2014 [citado 17 julio 2020]; 2014:1-31. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4066722/>

46. Yin H, Xu L, Porter N. Free Radical Lipid Peroxidation: Mechanisms and Analysis. *Chem Rev* [Internet]. 2011 [citado 23 julio 2020]; 111(10):5944-5972. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21861450/>
47. Costa V, Quintanilha A, Moradas-Ferreira P. Protein oxidation, repair mechanisms and proteolysis in *Saccharomyces cerevisiae*. *IUBMB Life* [Internet]. 2007 [citado 23 julio 2020]; 59(4):293-298. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17505968/>
48. Santra A, Maiti A, Das S, Lahiri S, Charkaborty S, Guha Mazumder D *et al.* Hepatic Damage Caused by Chronic Arsenic Toxicity in Experimental Animals. *J Toxicol Clin Toxicol.* [Internet]. 2000 [citado 23 julio 2020]; 38(4):395-405. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10930056/>
49. Yamanaka K, Ohba H, Hasegawa A, Sawamura R, Okada S. Mutagenicity of dimethylated metabolites of inorganic arsenics. *Chem Pharm Bull.* [Internet]. 1989 [citado 8 agosto 2020]; 37(10):2753-2756. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2692857/>
50. Felix K, Manna S, Wise K, Barr J, Ramesh G. Low levels of arsenite activates nuclear factor-kappaB and activator protein-1 in immortalized mesencephalic cells. *J Biochem Mol Toxicol.* [Internet]. 2005 [citado 8 agosto 2020]; 19(2):67-77. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15849723/>
51. Mu Y, Chen Y, Chang M, Chen Y, Huang B. Arsenic compounds induce apoptosis through caspase pathway activation in MA-10 Leydig tumor cells. *Oncol Lett.* [Internet]. 2019 [citado 8 agosto 2020]; Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31289573/>
52. Liu S, Athar M, Lippai I, Waldren C, Hei T. Induction of oxyradicals by arsenic: Implication for mechanism of genotoxicity. *Proc Natl Acad Sci U S A.* [Internet]. 2001 [citado 8 agosto 2020]; 98(4):1643-1648. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11172004/>

53. Bunderson M, Coffin J, Beall H. Arsenic Induces Peroxynitrite Generation and Cyclooxygenase-2 Protein Expression in Aortic Endothelial Cells: Possible Role in Atherosclerosis. *Toxicol Appl Pharmacol*. [Internet]. 2002 [citado 8 agosto 2020]; 184(1):11-18. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12392964/>
54. Yilmaz Y, Armagan E, Olmez O, Esen M, Alkis N, Dolar E. Acute arsenic self-poisoning for suicidal purpose in a dentist: a case report. *Hum Exp Toxicol*. [Internet]. 2009 [citado 10 agosto 2020]; 28(1):63-65. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19411562/>
55. Stenehjem A, Vahter M, Nermell B, Aasen J, Lierhagen S, Mørland J *et al*. Slow recovery from severe inorganic arsenic poisoning despite treatment with DMSA (2,3-dimercaptosuccinic acid). *Clin Toxicol (Phila)*. [Internet]. 2007 [citado 10 agosto 2020]; 45(4):424-428. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17486487/>
56. Islam M, Khan I, Attia J, Hassan S, McEvoy M, D'Este C *et al*. Association between Hypertension and Chronic Arsenic Exposure in Drinking Water: A Cross-Sectional Study in Bangladesh. *Int J Environ Res Public Health*. [Internet]. 2012 [citado 10 agosto 2020]; 9(12):4522-4536. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23222207/>
57. Abhyankar L, Jones M, Guallar E, Navas-Acien A. Arsenic Exposure and Hypertension: A Systematic Review. *Environ Health Perspect*. [Internet]. 2012 [citado 10 agosto 2020]; 120(4):494-500. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3339454/>
58. Navas-Acien A, Silbergeld E, Streeter R, Clark J, Burke T, Guallar E. Arsenic Exposure and Type 2 Diabetes: A Systematic Review of the Experimental and Epidemiologic Evidence. *Environ Health Perspect*. [Internet]. 2006 [citado 13 agosto 2020]; 114(5):641-648. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16675414/>

59. Villaamil E. Hidroarsenicismo crónico regional endémico en Argentina. *Acta Bioquím Clín Latinoam* [Internet]. 2015 [citado 13 agosto 2020]; 49(1):84-104. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/301494297_HIDROARSENICISMO_CRONICO_REGIONAL_ENDEMICO_HACRE_EN_ARGENTINA
60. Chen Y, Factor-Litvak P, Howe G, Graziano J, Brandt-Rauf P, Parvez F *et al.* Arsenic Exposure from Drinking Water, Dietary Intakes of B Vitamins and Folate, and Risk of High Blood Pressure in Bangladesh: A Population-based, Cross-sectional Study. *Am J Epidemiol*. [Internet]. 2006 [citado 19 agosto 2020]; 165(5):541-552. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17164464/>
61. Reddy A, Reddy Y, Shivakumar P, Hemalatha P. Evaluation of protective effect of N-acetyl cysteine on arsenic-induced hepatotoxicity. *J Nat Sci Biol Med*. [Internet]. 2013 [citado 19 agosto 2020];4(2):393. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3783787/>
62. Kaur T, Singh A, Goel R. Mechanisms pertaining to arsenic toxicity. *Toxicol Int*. [Internet]. 2011 [citado 19 agosto 2020]; 18(2):87. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21976811/>
63. Hopenhayn-Rich C. Lung and kidney cancer mortality associated with arsenic in drinking water in Cordoba, Argentina. *Int J Epidemiol*. [Internet]. 1998 [citado 19 agosto 2020]; 27(4):561-569. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9758107/>
64. Hughes M. Biomarkers of Exposure: A Case Study with Inorganic Arsenic. *Environ Health Perspect*. [Internet]. 2006 [citado 22 agosto 2020]; 114(11):1790-1796. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1665401/>
65. Kalantari H, Khodayar M, Saki N, Khorsandi L, Teymoori A, Alidadi H *et al.* Microarray analysis of apoptosis gene expression in liver injury induced by

- chronic exposure to arsenic and high-fat diet in male mice. *Environ Sci Pollut Res Int*. [Internet]. 2019 [citado 22 agosto 2020]; 26(25):26351-26366. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31290047/>
66. Kadirvel R, Sundaram K, Mani S, Samuel S, Elango N, Panneerselvam C. Supplementation of ascorbic acid and α -tocopherol prevents arsenic-induced protein oxidation and DNA damage induced by arsenic in rats. *Hum Exp Toxicol*. [Internet]. 2007 [citado 22 agosto 2020]; 26(12):939-946. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18375637/>
67. Valavanidis A, Vlachogianni T, Fiotakis C. 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG): A Critical Biomarker of Oxidative Stress and Carcinogenesis. *J. Environ Sci Health C*. [Internet]. 2009 [citado 22 agosto 2020]; 27(2):120-139. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/24399232_8-hydroxy-2'-deoxyguanosine_8-OHdG_A_Critical_Biomarker_of_Oxidative_Stress_and_Carcinogenesis
68. Sinha D, Roy M. Antagonistic Role of Tea Against Sodium Arsenite-Induced Oxidative DNA Damage and Inhibition of DNA Repair in Swiss Albino Mice. *J Environ Pathol Toxicol Oncol*. [Internet]. 2011 [citado 22 agosto 2020]; 30(4):311-322. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22181980/>
69. Chi L, Gao B, Tu P, Liu C, Xue J, Lai Y *et al*. Individual susceptibility to arsenic-induced diseases: the role of host genetics, nutritional status, and the gut microbiome. *Mamm Genome*. [Internet]. 2018 [citado 25 agosto 2020]; 29(1-2):63-79. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29429126/>
70. Ramos O, Carrizales L, Yáñez L, Mejía J, Batres L, Ortiz D *et al*. Arsenic increased lipid peroxidation in rat tissues by a mechanism independent of glutathione levels. *Environ Health Perspect*. [Internet]. 1995 [citado 25 agosto 2020]; 103(suppl 1):85-88. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1519332/>

71. Wang L, Xu Z. Effects of Arsenic (AsIII) on Lipid Peroxidation, Glutathione Content and Antioxidant Enzymes in Growing Pigs. *Asian-Australasian J Anim Sci.* [Internet]. 2006 [citado 25 agosto 2020]; 19(5):727-733. Disponible en: <https://www.animbiosci.org/journal/view.php?number=21310>
72. Witko-Sarsat V, Friedlander M, Capeillère-Blandin C, Nguyen-Khoa T, Nguyen A, Zingraff J *et al.* Advanced oxidation protein products as a novel marker of oxidative stress in uremia. *Kidney Int.* [Internet]. 1996 [citado 25 agosto 2020]; 49(5):1304-1313. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/14471597_Advanced_oxidation_protein_products_as_a_novel_marker_of_oxidative_stress_in_uremia
73. Erdogan H, Bulur I, Kocaturk E, Saracoglu Z, Alatas O, Bilgin M. Advanced oxidation protein products and serum total oxidant/antioxidant status levels in rosacea. *Postepy Dermatol Alergol.* [Internet]. 2018 [citado 25 agosto 2020]; 35(3):304-308. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6041719/>
74. United States Environmental Protection Agency. Drinking Water Arsenic Rule History. United States of America: EPA [Internet]; 2002. [citado 26 agosto 2020]. Disponible en: <https://www.epa.gov/dwreginfo/drinking-water-arsenic-rule-history>
75. Ministerio de Salud. Reglamento de la Calidad del Agua para Consumo Humano. Lima: Dirección General de Salud Ambiental (DIGESA); 2010. [citado 26 agosto 2020]. Disponible en: <https://www.gob.pe/institucion/minsa/normas-legales/244805-031-2010-sa>
76. Dirección general de salud de las personas - Ministerio de Salud. Guía Práctica Clínica para el Diagnóstico y Tratamiento de la Intoxicación por arsénico: RM N° 389-2011-SA. Lima: Estrategia sanitaria nacional de vigilancia y control de riesgos por contaminación con metales pesados y otras sustancias químicas. 2012. [citado 26 agosto 2020]. Disponible en: http://www.minsa.gob.pe/portalweb/06prevencion/prevencion_232.asp

77. Hays S, Aylward L, Gagné M, Nong A, Krishnan K. Biomonitoring Equivalents for inorganic arsenic. Regul Toxicol Pharmacol. [Internet]. 2010 [citado 26 agosto 2020]; 58(1):1-9. Disponible en: [https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20547195/#:~:text=Biomonitoring%20Equivalents%20\(BEs\)%20are%20defined,available%20data%20on%20pharmacokinetics%20with](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20547195/#:~:text=Biomonitoring%20Equivalents%20(BEs)%20are%20defined,available%20data%20on%20pharmacokinetics%20with)
78. Salazar K. Percepción, vulnerabilidad socioeconómica y adaptación al cambio climático del ganadero lechero del valle del Mantaro, Junín [Tesis de Magister]. Lima: Universidad Nacional Agraria de la Molina; 2016 [citado 30 agosto 2020]. Disponible en: <http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/UNALM/2748/L01-S343-T.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
79. Correo. En emergencia el agua potable en distritos de Jauja. [Internet]. 2013 [citado 30 agosto 2020]. Disponible en: <https://diariocorreo.pe/peru/en-emergencia-el-agua-potable-en-distritos-de-197248/?ref=dcr>
80. Instituto Nacional de Estadística e Informática INEI. Perú. [Internet]. Inei.gob.pe. 2020 [citado 30 agosto 2020]. Disponible en: <https://www.inei.gob.pe/estadisticas/indice-tematico/poblacion-y-vivienda/>
81. Molinos [Internet]. Jauja mi Perú. Web con información de la provincia de Jauja. 2015 [citado 30 agosto 2020]. Disponible en: <https://www.jaujamiperu.com/provincia-de-jauja/molinos.html>
82. Dirección Nacional de Salud Ambiental. Protocolo de monitoreo de la calidad sanitaria de los recursos hídricos superficiales. Ministerio de Salud. 2007. [citado 30 agosto 2020]. Disponible en: [http://www.digesa.minsa.gob.pe/depa/informes_tecnicos/PROTOCOLO-MONITOREO-CALIDAD-RECURSOS-HIDRICOS-SUPERFICIALES-\(CONTINENTALES\).pdf](http://www.digesa.minsa.gob.pe/depa/informes_tecnicos/PROTOCOLO-MONITOREO-CALIDAD-RECURSOS-HIDRICOS-SUPERFICIALES-(CONTINENTALES).pdf).

83. Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (EPA). MICROWAVE ASSISTED ACID DIGESTION OF AQUEOUS SAMPLES AND EXTRACTS 2007 [citado 30 agosto 2020]. Disponible en: <https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-12/documents/3015a.pdf>.
84. Litter M, Armienta M, Farías S. IBEROARSEN. Metodologías analíticas para la determinación y especiación de arsénico en aguas y suelos. España: CYTED, Ciencia y Tecnología para el Desarrollo; 2009 [citado 30 agosto 2020]. Disponible en: https://paginas.fe.up.pt/~cigar/html/documents/Monografia2_000.pdf.
85. Hanasand M, Omdal R, Norheim K, Gøransson L, Brede C, Jonsson G. Improved detection of advanced oxidation protein products in plasma. Clin Chim Acta. [Internet]. 2012 [citado 2 setiembre 2020];413(9-10):901-906. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22336637/>
86. Buege J, Aust S. [30] Microsomal lipid peroxidation. Methods Enzymol. [Internet]. 1978 [citado 2 setiembre 2020];:302-310. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/672633/>
87. Hu M. [41] Measurement of protein thiol groups and glutathione in plasma. Methods Enzymol. [Internet]. 1994 [citado 2 setiembre 2020]; 380-385. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8015473/>
88. Correo. En emergencia el agua potable en distritos de Jauja. [Internet]. 2013 [citado 2 setiembre 2020]. Disponible en: <https://diariocorreo.pe/peru/en-emergencia-el-agua-potable-en-distritos-de-197248/?ref=dcr>
89. Alvarez G, Veli L. Remoción de arsénico mediante arcilla natural del agua procedente del Manantial de Quero – Jauja [Tesis de Licenciatura]. Huancayo: Universidad Nacional del Centro; 2014 [citado 2 setiembre 2020]. Disponible en: [http://repositorio.uncp.edu.pe/bitstream/handle/UNCP/3719/Alvarez%20Ca marena-Vela%20Jimenez.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.uncp.edu.pe/bitstream/handle/UNCP/3719/Alvarez%20Ca%20marena-Vela%20Jimenez.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

90. Dirección regional de vivienda, construcción y saneamiento Junín. Plan Nacional de Saneamiento 2017 - 2021. Junín: Ministerio de Vivienda, Construcción y Saneamiento; 2020 p. 7-21. [citado 2 setiembre 2020]. Disponible en: <https://www.sedamhuancayo.com.pe/site/wp-content/uploads/2019/01/PLAN-REGIONAL-DE-SANEAMIENTO.pdf>
91. El Comercio. Junín: el 56% de la población bebe agua contaminada. [Internet]. 2012. [citado 2 setiembre 2020]. Disponible en: <http://elcomercio.pe/sociedad/lima/junin-56-poblacion-bebe-aguacontaminada-noticia-147440>
92. Correo. Digesa halla arsénico en agua que consume población de Jauja. [Internet]. 2012. [citado 2 setiembre 2020]: Disponible en: <https://diariocorreo.pe/ciudad/digesa-halla-arsenico-en-agua-que-consume-poblacion-de-jauja-530323/->
93. Mendez M, González-Horta C, Sánchez-Ramírez B, Ballinas-Casarrubias L, Cerón R, Morales D *et al.* Chronic Exposure to Arsenic and Markers of Cardiometabolic Risk: A Cross-Sectional Study in Chihuahua, Mexico. *Environ Health Perspect.* [Internet]. 2016 [citado 4 setiembre 2020]; 124(1):104-111. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26068977/>
94. Bundschuh J, Armienta M, Morales-Simfors N, Alam M, López D, Delgado Quezada V *et al.* Arsenic in Latin America: New findings on source, mobilization and mobility in human environments in 20 countries based on decadal research 2010-2020. *Crit Rev Environ Sci Technol.* [Internet]. 2020 [citado 4 setiembre 2020];:1-139. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/342871706_Arsenic_in_Latin_America_New_findings_on_source_mobilization_and_mobility_in_human_environments_in_20_countries_based_on_decadal_research_2010-2020
95. Mesa de concertación para lucha contra la pobreza. Alerta: Situación de la calidad de agua para consumo humano en la región Tacna-2017. Tacna:

- Comité Ejecutivo Regional (CER) de la MCLCP de Tacna; 2017 [citado 4 setiembre 2020]. Disponible en: https://www.mesadeconcertacion.org.pe/sites/default/files/archivos/2017/documentos/09/alerta_sobre_la_calidad_de_agua_para_consumo_humano_-_tacna_2017.pdf
96. Bulka C, Mabila S, Lash J, Turyk M, Argos M. Arsenic and Obesity: A Comparison of Urine Dilution Adjustment Methods. *Environ Health Perspect.* [Internet]. 2017 [citado 4 setiembre 2020];125(8):087020. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28858828/>
 97. Hays S, Aylward L, Blount B. Variation in Urinary Flow Rates According to Demographic Characteristics and Body Mass Index in NHANES: Potential Confounding of Associations between Health Outcomes and Urinary Biomarker Concentrations. *Environ Health Perspect.* [Internet]. 2015 [citado 4 setiembre 2020];123(4):293-300. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25625328/>
 98. Barr D, Wilder L, Caudill S, Gonzalez A, Needham L, Pirkle J. Urinary Creatinine Concentrations in the U.S. Population: Implications for Urinary Biologic Monitoring Measurements. *Environ Health Perspect.* [Internet]. 2005 [citado 4 setiembre 2020];113(2):192-200. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15687057/>
 99. Hinwood A, Sim M, de Klerk N, Drummer O, Gerostamoulos J, Bastone E. Are 24-Hour Urine Samples and Creatinine Adjustment Required for Analysis of Inorganic Arsenic in Urine in Population Studies?. *Environ Res.* [Internet]. 2002 [citado 4 setiembre 2020];88(3):219-224. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0013935102943392>
 100. Ale-Mauricio D, Villa G, Gastañaga M. Concentraciones de arsénico urinario en pobladores de dos distritos de la región Tacna, Perú, 2017. *Rev. Perú med exp salud pública.* [Internet]. 2018 [citado 4 setiembre 2020];35(2):183. Disponible en:

http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342018000200002

101. Lin T, Huang Y, Tseng W. Arsenic and lipid peroxidation in patients with blackfoot disease. *B Environ Contam Tox*. [Internet]. 1995 [citado 4 setiembre 2020];54(4):488-493. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007%2FBF00192589>
102. Shinall H, Song E, Hersh L. Susceptibility of Amyloid β Peptide Degrading Enzymes to Oxidative Damage: A Potential Alzheimer's Disease Spiral†. *Biochem* [Internet]. 2005 [citado 4 setiembre 2020]; 44(46):15345-15350. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16285738/>
103. Biswas D, Banerjee M, Sen G, Das J, Banerjee A, Sau T *et al.* Mechanism of erythrocyte death in human population exposed to arsenic through drinking water. *Toxicol Appl Pharmacol*. [Internet]. 2008 [citado 4 setiembre 2020]; 230(1):57-66. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18377941/>

11. ANEXOS

ANEXO 1: CONSENTIMIENTO INFORMADO

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA TOMA DE MUESTRA DE SANGRE Y ORINA

Título del estudio: EVALUACIÓN DE BIOMARCADORES DE ENFERMEDAD HEPÁTICA, CARDIOVASCULAR Y GENOTOXICIDAD EN POBLADORES DEL DEPARTAMENTO DE JUNÍN EXPUESTOS A ALTOS NIVELES DE ARSÉNICO POR CONSUMO DE AGUA.

Investigadores:

- **Dra. Yadira Fernández**, Responsable de Investigación Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima. Celular: 949407507
- **Q.F. Christopher Dávila**, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima.
- **Bach. Leslie López Palacios**, Escuela Académico Profesional de Toxicología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima.

INFORMACIÓN GENERAL

La contaminación por arsénico en agua de consumo es un problema que afecta a varias regiones del Perú incluyendo la provincia de Jauja, esto puede ocasionar problemas de salud en la población que está siendo expuesta como enfermedades en la piel, enfermedades cardíacas, hepáticas y cáncer. Aún no se ha descubierto el mecanismo por el cual el consumo de arsénico puede llegar a causar dichas enfermedades, por lo que el desarrollo de estas se relaciona a la exposición crónica (durante un largo tiempo) y la propuesta más aceptada es que el arsénico interviene con las reacciones enzimáticas del cuerpo, generando el daño en los órganos ya mencionados.

OBJETIVO DEL ESTUDIO

El principal objetivo del estudio es evaluar el estado de salud de la población expuesta a arsénico a través de la medición de indicadores enzimáticos de estrés oxidativo, daño cardiovascular, hepático y genotóxico (daño en el ADN).

¿QUÉ DEBO HACER?

De aceptar su participación voluntaria en este estudio, usted acepta:

- Llenar una encuesta de 11 preguntas, las cuales usted deberá responder con total sinceridad.
- Que el personal del estudio obtenga una muestra de sangre de aproximadamente 8ml. El personal encargado de dicha actividad es personal capacitado y el procedimiento se realizará bajo condiciones de seguridad y asepsia. Debido al pinchazo para realizar la extracción puede producirse un mínimo hematoma, por lo que después de realizada la punción se hará presión sobre la zona.
- Otorgar una muestra de orina al personal de estudio, para la muestra se debe realizar una limpieza previa de la zona genital, luego se deja correr un poco de orinar y se recolecta lo restante en el frasco estéril proporcionado por el personal de estudio. De preferencia la primera orina del día.

BENEFICIOS

De participar en el proyecto de investigación se le hará entrega de los resultados de la campaña realizada en la comunidad que son los siguientes análisis: hemoglobina, perfil lipídico y glucosa.

PRIVACIDAD DE DATOS

Los investigadores y el equipo de investigación involucrado en la realización de este estudio usarán la información recolectada. Todos los participantes estarán codificados con números o letras de manera aleatoria.

Solamente los investigadores tendrán acceso a las respuestas que usted dé en la encuesta. Los resultados obtenidos a partir de las muestras obtenidas serán presentados como grupo o de manera resumida y bajo ninguna circunstancia será compartida información individual de los participantes.

FIRMAS

Al firmar en este documento está indicando que ha comprendido satisfactoriamente la información respecto a su participación en este estudio y acepta a participar de manera voluntaria en el mismo. De ninguna forma este documento vulnera sus derechos legales o libera de algún tipo de responsabilidad profesional o legal a los investigadores. Usted es libre de retirarse del estudio en cualquier momento sin perjuicio de su salud. Si tiene más dudas respecto al estudio puede contactarse con los investigadores.

Nombre del Participante _____

DNI _____

Firma del Participante _____

Fecha: / /

ANEXO 2: FORMATO DE RECOLECCIÓN DE DATOS

ENCUESTA DE SALUD		CODIGO: _____	
Edad _____	Sexo	<input type="checkbox"/> M <input type="checkbox"/> F	P.A. _____
Talla _____	Peso _____	Cintura _____	
 EXPOSICIÓN			
1 ¿Hace cuántos años vive en Molinos?			
<input type="checkbox"/> ≤ 4 años	<input type="checkbox"/> 5 - 9 años	<input type="checkbox"/> ≥ 10 años	
2 ¿Cuál es su ocupación?			
<input type="checkbox"/> Agricultor	<input type="checkbox"/> Comerciante	<input type="checkbox"/> Ama de casa	<input type="checkbox"/> Otro _____
3 ¿De qué fuente consume agua?			
<input type="checkbox"/> Red pública	<input type="checkbox"/> Pozo	<input type="checkbox"/> Río/Laguna	<input type="checkbox"/> Otro _____
 HÁBITOS NOCIVOS			
4 ¿Con qué frecuencia fuma cigarros?			
<input type="checkbox"/> No consumo	<input type="checkbox"/> Semanal	<input type="checkbox"/> Mensual	<input type="checkbox"/> Cant _____
5 ¿Con qué frecuencia consume bebidas alcohólicas?			
<input type="checkbox"/> No consumo	<input type="checkbox"/> Semanal	<input type="checkbox"/> Mensual	<input type="checkbox"/> Cant _____

HÁBITOS ALIMENTICIOS

6 ¿Con qué frecuencia consume alimentos ricos en grasas? (Frituras, grasa animal)

<input type="checkbox"/>	≤ 3 veces/sem	<input type="checkbox"/>	4 a 6 veces/sem	<input type="checkbox"/>	Todos los días	<input type="checkbox"/>	Cant _____
--------------------------	---------------	--------------------------	-----------------	--------------------------	----------------	--------------------------	------------

7 ¿Con qué frecuencia consume alimentos ricos en carbohidratos? (tubérculos, harinas, dulces)

<input type="checkbox"/>	≤ 3 veces/sem	<input type="checkbox"/>	4 a 6 veces/sem	<input type="checkbox"/>	Todos los días	<input type="checkbox"/>	Cant _____
--------------------------	---------------	--------------------------	-----------------	--------------------------	----------------	--------------------------	------------

ANTECEDENTES PATOLÓGICOS

8 ¿Padece alguna enfermedad?

<input type="checkbox"/>	Hipertensión Arterial	<input type="checkbox"/>	Diabetes Mellitus Tipo 2	<input type="checkbox"/>	Dislipidemia	<input type="checkbox"/>	Otro _____
--------------------------	-----------------------	--------------------------	--------------------------	--------------------------	--------------	--------------------------	------------

<input type="checkbox"/>	Hígado graso	<input type="checkbox"/>	Cáncer	Especificar _____
--------------------------	--------------	--------------------------	--------	-------------------

9 ¿Consumes medicamentos de manera frecuente? Especifique: _____

<input type="checkbox"/>	No	<input type="checkbox"/>	Sí	<input type="checkbox"/>	Cant _____	<input type="checkbox"/>	Tiem _____
--------------------------	----	--------------------------	----	--------------------------	------------	--------------------------	------------

10 ¿Tiene familiares con las siguientes con HTA, DM2, Dislipidemia, cáncer?

<input type="checkbox"/>	No	<input type="checkbox"/>	Sí	Especificar _____
--------------------------	----	--------------------------	----	-------------------

11 ¿Ha sufrido una baja de peso considerable en un corto tiempo?

<input type="checkbox"/>	No	<input type="checkbox"/>	Sí	Especificar _____
--------------------------	----	--------------------------	----	-------------------

ANEXO 3: FOTOS DE LA CAMPAÑA Y RECOLECCIÓN DE MUESTRA



Figura 17 Foto del Centro campestre Puyhuan. Fuente: Elaboración propia.



Figura 18 Foto del Reservorio Punkumachay. Fuente: Elaboración propia.



Figura 19 Foto del Reservorio Huanchaspuquio. Fuente: Elaboración propia.

CAMPAÑA EN EL DISTRITO DE MOLINOS



Figura 20 Foto de la campaña de salud en el distrito de Molinos. Fuente: Elaboración propia.



Figura 21 Foto de la campaña de salud en el distrito de Molinos. Fuente: Elaboración propia.

ANEXO 4: RESULTADOS DE LOS ANÁLISIS DE ARSÉNICO EN AGUA DE MOLINOS.



PACIENTE: AGUA DE MOLINOS, RESERVARIO
001
MEDICO:
ORDEN: 863946
FECHA: 23/Feb/2018

RESULTADO DEL ANÁLISIS

REF: IYE_46	SEXO: sexo0	EDAD:	REPORTADO: 26/Feb/2018 17:50:54
-------------	-------------	-------	---------------------------------

TOXICOLOGÍA

Prueba	Resultado	Unidades	Valores de referencia
ARSENICO PPM	0.053	ppm	(Inf. 0.01)

Figura 22 Resultado de agua del Reservorio Punkumachay. Fuente: Elaboración propia.

RESULTADO DEL ANÁLISIS			
REF: IYE_46	SEXO: sexo0	EDAD:	REPORTADO: 26/Feb/2018 17:32:09

TOXICOLOGÍA

Prueba	Resultado	Unidades	Valores de referencia
ARSENICO PPM	0.045	ppm	(Inf. 0.01)

Figura 23 Resultado de agua del Reservorio Punkumachay 2. Fuente: Elaboración propia.

RESULTADO DEL ANÁLISIS			
REF: IYE_46	SEXO: sexo0	EDAD:	REPORTADO: 26/Feb/2018 17:53:39

TOXICOLOGÍA

Prueba	Resultado	Unidades	Valores de referencia
ARSENICO PPM	0.044	ppm	(Inf. 0.01)

Figura 24 Resultado de agua del Reservorio Huanchaspuquio. Fuente: Elaboración propia.

RESULTADO DEL ANÁLISIS			
REF:IYE_46	SEXO:sexo0	EDAD:	REPORTADO:26/Feb/2018 17:54:57

TOXICOLOGÍA

Prueba	Resultado	Unidades	Valores de referencia
ARSENICO PPM	0.054	ppm	(Inf. 0.01)

Figura 25 Resultado de agua del Centro campestre Puyhuay. Fuente: Elaboración propia.

RESULTADO DEL ANÁLISIS			
REF:IYE_46	SEXO:sexo0	EDAD:	REPORTADO:26/Feb/2018 17:55:57

TOXICOLOGÍA

Prueba	Resultado	Unidades	Valores de referencia
ARSENICO PPM	0.04	ppm	(Inf. 0.01)

Figura 26 Resultado de agua del Centro campestre Puyhuay. Fuente: Elaboración propia.

ANEXO 5: CURVAS DE CALIBRACIÓN DE CLORAMINA T (PAOP)

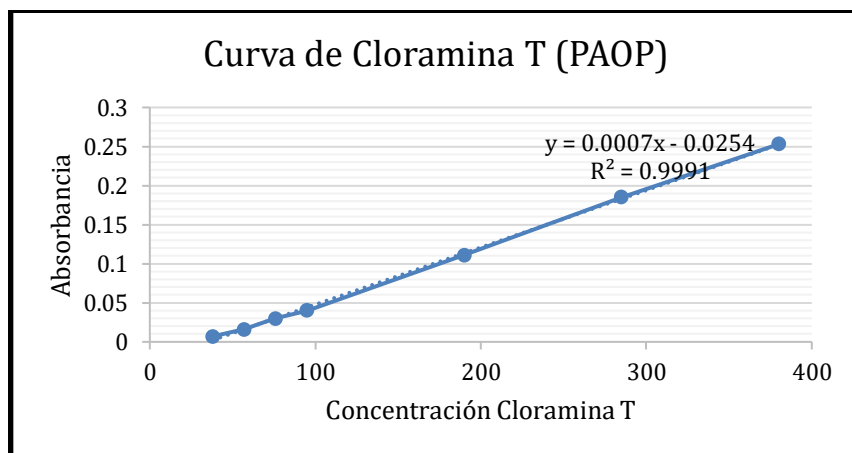


Figura 27 Curva de Calibración de Cloramina T (PAOP). Fuente: Elaboración propia.

ANEXO 6: CURVA DE CALIBRACIÓN DEL GLUTATIÓN

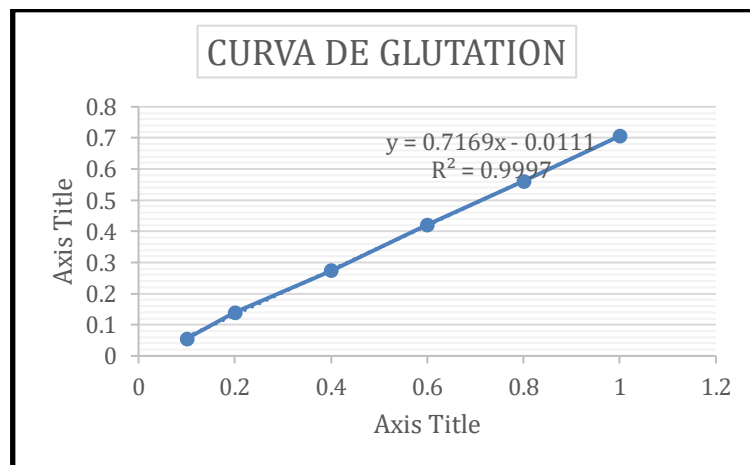


Figura 28 Curva de Calibración de Glutatión. Fuente: Elaboración propia.